



Landbrugsafdelingen. Årsberetning 1988

Forskningscenter Risø, Roskilde

Publication date:
1989

Document Version
Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link back to DTU Orbit](#)

Citation (APA):
Forskningscenter Risø, R. (1989). *Landbrugsafdelingen. Årsberetning 1988*. Risø-M No. 2777

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

DK 8900070

Risø-M-2777

RISØ

Risø-M-2777

Landbrugsafdelingen Årsberetning 1988

**Forskningscenter Risø, 4000 Roskilde, Danmark
Januar 1989**

Landbrugsafdelingen

Årsberetning 1988

Risø-M-2777

Forskningscenter Risø, 4000 Roskilde
Januar 1989

Abstract. Årsberetningen indledes med en generel omtale af afdelingens forskningsarbejde. Årets aktiviteter er beskrevet i 4 projektberetninger efterfulgt af publikations- og foredragslister, samt oversigter over personale, gæsteforskere og studerende. Årsberetningen indeholder desuden 2 oversigtsartikler om udvalgte emner fra afdelingens arbejde omhandlende: "Ærtemutanter" og "Koblingskort".

ISBN 87-550-1509-3
ISSN 0418-6435
ISSN 0903-7829

Sats og tryk: Grafisk Service, Risø

Indholdsfortegnelse

1. Indledning	5
2. Projektberetninger	5
2.1. Molekylærbiologi	5
2.2. Celle- og vævskultur	7
2.3. Genetik og resistensbiologi	9
2.4. Planternæring og miljø	15
3. Andre forskningsopgaver	19
4. Øvrige aktiviteter	20
4.1. Seminarer	21
4.2. Rejser og studieophold i udlandet	21
5. Personale, gæsteforskere og studerende	22
5.1. Personale og stipendiater	22
5.2. Udenlandske gæsteforskere	23
5.3. Studerende	23
6. Udvalgte emner	23
6.1. Ærtemutanter	23
6.2. Koblingskort	25



1. Indledning

Afdelingens bioteknologiske arbejde har i beretningsåret været tilknyttet Bioteknologisk Center for Planter, som blev etableret i slutningen af 1987. Hans Doll blev udnævnt til leder af centret og fratrådte hermed sin stilling som sektionsleder på afdelingen. Vi har derfor gennemført en vis omstrukturering, således at arbejdet nu er organiseret i fire forskningsgrupper: 1) Molekylærbiologi, 2) Celle- og vævskultur, 3) Genetik og resistensbiologi og 4) Planteernæring og miljø. I denne beretning om arbejdet i 1988 er der givet en kortfattet oversigt over årets resultater inden for de fire forskningsområder og en mere udførlig beskrivelse af 2 udvalgte emner.

Det molekylærbiologiske arbejde, der omfatter udvikling og udnyttelse af den nye genteknologi, skal bl.a. på længere sigt bidrage til fremstilling af transgeniske planter. En af forudsætningerne herfor er, at man via celle- og vævskultur bliver i stand til at regenerere planter fra genmanipulerede celler. De genetiske og resistensbiologiske undersøgelser omfatter bl.a. analyser af planter og plantepatogene svampe. Disse områder er nært relateret til de molekylærbiologiske undersøgelser vedrørende sygdomsresistens og plantekvalitet, som er vigtige forskningsområder i det Bioteknologiske Center for Planter.

Risø's overordnede målsætning rettes i disse år i særlig grad mod Danmarks energi- og miljøproblemer. Landbrugsafdelingens forskning vedrørende planteernæring og miljø indgår heri som et væsentligt element, idet arbejdet især er koncentreret omkring kvælstoffets kredsløb i jordbruget. Undersøgelserne skal bidrage til at belyse, hvorledes man sikrer en effektiv udnyttelse af kvælstoffet i planteproduktionen og dermed undgår forurening af vandløb og grundvand. Det resistensbiologiske arbejde vil ligeledes kunne bidrage til at mindske miljøproblemer ved at reducere behovet for anvendelse af kemiske bekæmpelsesmidler.

Afdelingens bioteknologiske arbejde har modtaget støtte fra Bioteknologisk Center for Planter, fra FTU-programmet og fra programmet vedr. Biomolekylær teknik. Undersøgelser af byg-meldugsvampens angrebsevne har delvis været finansieret af Nordisk Ministerråd, og IAEA har støttet arbejdet med meldugresistens; EF's landbrugsdirektorat har bevilget midler til undersøgelser vedrørende symbiotisk kvælstofbinding og

VA-mykorrhiza, og SJVF har bevilget støtte til projektet vedrørende fremstilling og anvendelse af monoklonale antistoffer og til undersøgelser af biologisk bekæmpelse af meldug. Endvidere deltager afdelingen i og modtager støtte fra et SJVF-initiativ om "Mikrobielle processer i rodzonen".

Studerende fra Den Kgl. Vet.- og Landbohøjskole (KVL) og Københavns Universitet har gennemført hoved- og specialeopgaver, og seks licentiatprojekter udføres på afdelingen med støtte fra Forskerakademiet/Risø, Bioteknologisk Center for Planter og via kandidatstipendium fra KVL. (Arna Andersen).

2. Projektberetninger

2.1. Molekylærbiologi

Molekylærbiologiske studier af plante-patogen samspil: Byggens resistensgener og melduggens virulensgener er undersøgt genetisk, men de biokemiske processer, der ligger til grund for interaktionen, er ukendte. Vi forsøger ad molekylærbiologisk vej at identificere og karakterisere gener, der har betydning for henholdsvis svampens angrebsevne og plantens resistens (projekt 2.1.1.-2.1.6.).

Proteinkvalitet: En stor del af bygkernens protein består af lagerproteiner med et lavt indhold af aminosyren lysin, der er essentiel for dyr og mennesker. Det forringer den samlede næringsværdi af proteinet i bygkernerne. Ved hjælp af genetisk transformation af byg ønskes mængden af lysinrige proteiner øget (projekt 2.1.7.).

2.1.1. Plasmider i meldug

Meldugsvampen har vist sig at indeholde ekstrakromosomalt plasmidlignende DNA. En plasmidspecifik sekvens er klonet i pUC12 vektorer og opformeret i *E. coli*. Et midlertidigt restriktionskort af plasmidet er konstrueret. Det klone DNA genkender et transcript i melduginficerede bygblade. En række meldugisolater er undersøgt for tilstedeværelsen af plasmider, og ca. 50% indeholder plasmidet. Krydsningsafkom fra meldugisolater med og uden plasmid er undersøgt. Der var ingen korrelation mellem de under-

søgte virulensgener og plasmid. Afkom fra enkelt-cleistothecier bliver nu analyseret for at undersøge, om plasmidet nedarves maternelt. (Henriette Giese, Hans Peter Jensen og Solveig K. Rasmussen).

2.1.2. RFLP-analyse af meldug

Restriktions fragment længde polymorfi teknikken (RFLP) bruges til at finde molekylære markører i melduggenomet. Teknikken bygger på, at forskellige individer inden for samme art har små forskelle i deres DNA-basesekvenser.

Vi har nu undersøgt omkring 130 DNA-kloner fra meldug for deres egnethed til RFLP-analyse. Langt de fleste repræsenterer repetitivt meldug-DNA, så der ved hybridisering til totalt meldug-DNA fås et stort antal bånd, der adskiller meldugisolaterne. Disse kloner er uegnede til RFLP-analyser, men kan bruges i populationsstudier. Færre kloner repræsenterer kopisekvenser, der findes i lave antal, og med disse har vi analyseret afkomsisolater af en krydsning mellem to meldugisolater. Afkomsisolaterne er desuden blevet testet for nedarvning af virulensgener. Der er ikke fundet kobling mellem RFLP-markører og de testede virulensgener. (Henriette Giese og Solveig K. Rasmussen).

2.1.3. Identifikation og karakterisering af DNA-kloner fra meldug

DNA fra meldugsporer er blevet klonet i et cosmid-bibliotek. Biblioteket er delt i ca. 200 grupper hver med 12 cosmidkloner indeholdende i alt ca. 500 kilobasepar meldug-DNA. Disse grupper er blevet screenet med radioaktivt mærket RNA, der er isoleret fra melduginficerede bygplanter. Det er lykkedes at identificere DNA-fragmenter, der udtrykkes på forskellige stadier af melduginfektionen.

Teknikken vil forhåbentlig gøre det muligt at identificere og karakterisere gener af melduggen, der er involveret i de forskellige faser af infektionsprocesser og i udviklingen af plantesygdomme. (Henriette Giese og Lone Rossen).

2.1.4. Oprensning af antistof mod infektionsspecifikke proteiner

I samarbejde med Planteværnscentret er der fremstillet polyklonale antistoffer mod protein ekstraheret fra epidermis af melduginficerede bygblade, epidermis af sunde bygplanter og fra

meldugsporer. Synlige forskelle i båndmønstre er fundet, når antistof fra meldugsporer reagerer mod proteinekstrakter fra henholdsvis sunde bygblade og smittede bygblade. Antistof mod inficerede blade reagerer desuden mod 3-4 proteiner fra meldugsporekstrakter. (Lone Rossen).

2.1.5. Sygdomsresistens i raps

Projektets formål er at undersøge kitinasens og β -1,3-glucanasens betydning for sygdomsresistens i raps. Forskellige rapslinier undersøges for resistens mod følgende svampe: *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahlia*, *Phoma lingam* og *Cylindrosporium concentricum*.

Polyklonale antistoffer fremstillet mod sukkerroe-kitinase krydsreagerer med proteinet i rapsen. Kitinase-genet fra sukkerroe er klonet og har ved Southern Blot vist sig at genkende sekvenser i raps. (Henriette Giese og Ulla Rasmussen).

2.1.6. Kitinase i byg

I samarbejde med De Danske Sukkerfabrikkers biokemiske laboratorium er der blevet oprenset kitinase fra bygblade. Kitinase findes både i melduginficerede og ubehandlede bygblade, og det er blevet ekstraheret fra både intercellulærrumme mellem bladcellerne og fra homogeniserede bladceller. Ved oprensningen er der bl.a. benyttet søjler af kitin, som specifikt tilbageholder kitinaser. Der blev oprenset 5 proteiner med en molekylvægt på 14-30 kD. Deres kitinaseaktivitet er blevet testet i et radiokemisk assay, hvor nedbrydningen af ^3H -mærket kitin måles. Endvidere er der anvendt et bioassay, hvor væksten af svampen *Trichoderma viride* hæmmes af kitinase. Det skyldes sandsynligvis, at kitinase nedbryder kitin i cellevæggen ved svampens hyfespidser og derved stopper dens vækst. Kitinaser i planter formodes således at bidrage til forsvaret imod invaderende svampe. (Henriette Giese og Karsten Kragh).

2.1.7. cDNA kloning af basiske bygproteiner

Der findes lysinrige proteiner i byg, som kan erstatte nogle af de lysinfattige lagerproteiner. Et af disse er protein Z, som laves samtidig med lagerproteinerne under kernefyldningen; et andet er basisk peroxidase. Ved hjælp af genetisk transformation af byg ønskes mængden af disse to proteiner øget. Derfor må generne for et eller

flere af disse proteiner klones med henblik på kortlægning og karakterisering af struktur og regulerende sekvenser.

Ved hjælp af antistoffer mod byg-peroxidaser er en cDNA-klon, pcR7, identificeret og nukleotid-sekvensen bestemt. Denne nukleotid-sekvens kan oversættes til en aminosyre-sekvens, som er identisk med aminosyre-sekvensen bestemt for peroxidasen BPI oprenset fra modne bygkerner. Analyse af RNA isoleret fra henholdsvis endosperm og embryo viser, at pcR7-RNA kun bliver udtrykt i endospermen, og at RNA'en først kan påvises ca. fem dage efter, at syntesen af protein Z og lagerproteinene er begyndt.

I et cDNA-bibliotek er der fundet to typer protein Z kloner, som ligner hinanden. Den ene er for *Paz4*-genet og den anden for *Paz7*-genet, der formentlig ligger på bygkromosom 7. Den længste (1000 bp) er anvendt til søgning efter genet(erne) for protein Z i et genomisk byg DNA-bibliotek. En klon er oprenset til renhed, og en indledende restriktionsanalyse viser, at stykket ligger på et ca. 18000 bp langt BamHI-restriktionsfragment. (Søren K. Rasmussen).

Publikationer

Bohlmann, Holger, Susanne Clausen, Susanna Behnke, Henriette Giese, Claudia Hiller, Ulrich Resimann-Philipp, Gesine Schrader, Vibeke Børkhardt and Klaus Apel, 1988: Leaf-specific thionins of barley - a novel class of cell wall proteins toxic to plant-pathogenic fungi and possibly involved in the defence mechanism of plants. - *The EMBO Journal* Vol. 7, no. 6: 1559-1565.

Collinge, David B. and Lone Rossen, 1988: Gensplejsning i planteavl - hvor står vi i dag, og hvad kan fremtiden byde. - *Landmandsalmanakken* 1989: 58-64.

Doll, Hans, 1988: Biotechnologisk Center for Planter. - *Ugeskrift for Jordbrug* nr. 34: 778-788.

Giese, Henriette and Solveig Krogh Rasmussen, 1988: Analysis of chromosomal and plasmid-like DNA in barley powdery mildew. - *European Conference on Biotechnology, Scientific, technical and industrial challenges*. November 7-8, 1988, Verona: 206-207.

Giese, Henriette: Presence of extrachromosomal plasmid-like DNA in barley powdery mildew. - *Proc. Internat. Congress on Genetic Manipulation in Plant Breeding* (eds C.J. Jensen & C.N. Law), Plenum Press (under trykning).

Rasmussen, Solveig Krogh, 1988: Molecular markers in *Erysiphe graminis f.sp. hordei*. - *Nordisk Jordbrugsforskning* 70(4): 534.

Rasmussen, Søren K., K.G. Welinder and J. Heigaard: cDNA clone for a basic peroxidase from immature barley

seeds. - *Proc. Internat. Congress on Genetic Manipulation in Plant Breeding* (eds C.J. Jensen & C.N. Law), Plenum Press (under trykning).

Posters:

Kragh, Karsten, Klaus K. Nielsen and Jørn Dalgaard Mikkelsen: Purification and characterization of chitinases from mildew infected barley leaves. - 8th Internat. Symposium on HPLC of Proteins, Peptides and Polynucleotides. Copenhagen, Denmark, October 31 - November 2, 1988.

Rasmussen, Solveig K., Henriette Giese and Lone Rossen: Restriction fragment length polymorphism in different isolates of the barley powdery mildew fungus. - 4th International Symposium on Molecular Genetics of Plant Microbe Interactions. Acapulco, Mexico, 15-20 May.

Rasmussen, Søren K., K.G. Welinder and J. Heigaard: Karakterisering af peroxidaser fra bygkerner. - Bioekemisk Forenings årsmøde, Fuglsøcenter, 14.-15. oktober.

Rasmussen, Søren K., K.G. Welinder and J. Heigaard: Peroxidase gene expression in barley seeds. - 2nd International Congress of Plant Molecular Biology, Jerusalem, Israel, 13-18 November.

Foredrag:

Rasmussen, Solveig K.: Restriktions fragment længde polymorfi og nedrivning af virulensgener i bygmeldug, *Erysiphe graminis f.sp. hordei*. - Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole, 25. oktober.

Rasmussen, Søren K.: Gensplejsning. - Roskilde Folkeuniversitet, 14. april og 29. september.

Rasmussen, Søren K.: cDNA for basisk peroxidase fra byg. - Seminar på De Danske Sukkerfabrikker, København, 2. juni.

Rasmussen, Søren K.: Ekspression af peroxidasegener i bygendospermen. - Seminar på Plantepatologisk Institut, Den Kgl. Veterinær- og Landbohøjskole, København, 4. oktober.

2.2. Celle- og vævskultur

Der findes i dag metoder til indsættelse af nye gener i enkeltceller *in vitro*. Regeneration af planter fra sådanne transformerede celler bør ske ved somatisk embryogenese, d.v.s. på en måde, der svarer til en naturlig kimudvikling i et frø, idet man kun derved får en sikker bevarelse af den transformerede celledens egenskaber. Det grundlæggende mål for celle- og vævskulturgruppens arbejde er at udvikle metoder til produktion af

af bygplanter fra dyrkede enkeltceller via embryogenese.

I de seneste år er der sket betydelige fremskridt inden for *in vitro* kultur af græsserne, og der kan nu regenereres planter fra enkeltceller hos mange af de vigtigste arter. På landbrugsafdelingen forsøger vi at optimere teknikker til somatisk embryogenese og regeneration i støvknap-, pollen- og suspensionskulturer af byg. Desuden søges celledifferentierings-processerne belyst ved sammenlignende biokemiske undersøgelser af embryogenesen *in vitro* og *in vivo*.

2.2.1. Pollenkultur

Der er nu regenereret bygplanter fra isolerede pollenkorn. Metoden er reproducerbar og giver mulighed for at opnå transgeniske planter fra gen-manipulerede enkeltceller. Vi har derfor indledt forsøg med det formål at indføre DNA i pollenkorn ved hjælp af elektroporation. I samarbejde med De Danske Sukkerfabrikker har vi vist, at pollenkornenes cellekerner kan optage lavmolekylære stoffer ved elektroporation, samt at ca. 15% af de behandlede pollenkorn kan fortsætte deres udvikling til planter. Denne udvikling ser ud til at foregå ved somatisk embryogenese. Der er udviklet en metode til gradientcentrifugering, hvorved den levende pollenfraktion kan isoleres, og fra denne fraktion kan de embryogene korn oprensnes over endnu en gradient. I øjeblikket kan der for sorten 'Igri's vedkommende regenereres ca. 300 planter pr. aks. Metoden er blevet væsentligt forbedret ved en erstatning af kuldebehandling ved kulturens start med en mannitolbehandling. Ændring af regenerationsmediet har også vist sig at give flere grønne planter. (Rikke Bagger Jørgensen).

2.2.2. Støvknapkultur

I støvknapkulturer på Sea Plaque-agarosemedier af sorten 'Igri' har vi fundet, at det totale antal planter pr. donoraks gennemsnitligt øges fra 55 til 85 ved en udskiftning af sukrose med maltose som kulhydratkilde i mediet. Samtidig stiger andelen af grønne planter fra 45 til 55%. Ved at benytte Ficoll som vækstunderlag i stedet for Sea Plaque er det totale antal planter pr. aks yderligere øget til 180, hvoraf 70% er grønne. Lignende resultater er opnået med vårbygssorterne 'Sabarlis' og 'Dissa'.

Afkom af 80 planter, som er regenereret fra støvknapkulturer af 'Sabarlis', har været udlagt i

markforsøg. Herved vurderes den somaklonale variation, som ofte forekommer blandt regenererede planter.

Hos hvede er det kendt, at der hos nogle sorter kun kan regenereres planter via støvknapkulturer, når donorplanterne er cytoplasmatisk hansterile. Vi har undersøgt dette forhold hos tre forskellige byglinier med genbaggrund fra kendte sorter, men det viste sig umuligt at opnå celledelinger i pollenet. (Karen Koefoed Petersen).

2.2.3. Suspensions- og protoplastkultur

Der er etableret embryogene såvel som non-embryogene suspensionskulturer af sorterne 'Golden Promise', 'Igri' og 'Dissa'. Kulturerne anvendes til analyse af extracellulære proteiner og til protoplast isolering.

Frekvensen af etablerede suspensioner har været lav (en suspension pr. 65 induktioner) og etableringsfasen lang (ca. 5-9 måneder). Det skyldes, at udgangsmaterialet - embryogent kallus induceret fra zygotiske embryoer - gror dårligt i flydende næringsmedium. Gentagne subkultivering af kallus før induktionen har øget etableringsfrekvensen til ca. 50% og nedsat etableringstiden til ca. seks måneder. Yderligere nedsættelse af etableringstiden til ca. fire måneder er opnået ved at benytte materiale fra pollenkultur. Her er etableringsfrekvensen nær ved 100%. Regeneration af planter fra suspensionerne har indtil nu kun givet albinoplanter. (Renate Lühns og Kirsten Nielsen).

Der er for nylig isoleret protoplaster fra de etablerede suspensioner. Protoplasterne kan dele sig og danne et stort antal kolonier. (Rikke Bagger Jørgensen og Renate Lühns).

2.2.4. Biokemisk karakterisering af embryogenesen

Ved sammenlignende undersøgelser af embryogenesen *in vivo* og *in vitro* kan man søge at fastslå, hvornår og hvorfor *in vitro*-embryogenesen hindres. Vi arbejder derfor med at karakterisere bygcelle-differentieringen cytologisk og biokemisk. Heri indgår en eftersøgning af biokemiske markører, hvis embryospecificitet vil kunne hjælpe til identificering af tidlige udviklingsstadier. Til dette formål er en følsom og forenklet metode til to-dimensional elektroforese af bygproteiner blevet udviklet. Der kan rutinemæssigt identificeres ca. 600 pletter af polypeptider i de undersøgte væv. Ved sammenligning mellem embryogene og

non-embryogene kalli viser 2-3% af pletterne forskelle, der nu bliver nærmere undersøgt bl.a. ved hjælp af antistoffer.

Et tilsyneladende embryospecifikt protein er fundet ved hjælp af et monoklonalt antistof, og dets molekylvægt samt isoelektriske punkt er blevet bestemt. Det er også vist, at dette protein ikke findes i noget andet væv i bygplanten, og de foreløbige resultater fra forsøg med *in vitro*-kulturer er lovende: Antistoffet reagerer med et lignende protein hos embryogene kalluskulturer og isolerede, somatiske embryoer, men ikke med non-embryogene kulturer. (Bertel Køie, Renate Lührs og Ole Schou).

I et nu afsluttet specialeprojekt er der arbejdet med oprensning af membranfraktioner fra blade, rødder, zygotiske og somatiske embryoer samt fra *in vitro*-kulturer. Formålet har været at identificere embryospecifikke membranproteiner ved hjælp af elektroforese og polyklonale antistoffer. Der kunne opnås antistoffer med præference for et sådant protein, hvis molekylvægt blev bestemt til 82 kD. (Lars H. Pedersen).

I et licentiatprojekt analyseres extracellulære proteiner udskilt til næringsmediet af embryogene og non-embryogene suspensionskulturer for om muligt at finde embryospecifikke proteiner. Ved endimensional elektroforese af disse extracellulære proteiner ses 48-50 bånd. Under udifferentierende betingelser er der kun konstateret ringe forskel i båndmønstre mellem suspensionerne af sorterne 'Golden Promise', 'Igri' og 'Dissa'. Foreløbige undersøgelser af embryogene og non-embryogene suspensioner af 'Igri' viser forskelle i de to kulturstypers extracellulære proteiner. (Kirsten Nielsen).

Krydsninger mellem sorterne 'Golden Promise' og 'Jane Hadaka' har vist, at evnen til en god planteregeneration fra kallus er arvelig. Kallus induceret fra embryoer af 'Golden Promise' giver mange regenererede planter, mens 'Jane Hadaka'-kallus kun danner få planter. I F₃-generationen er der fundet planter med en morfologi som 'Jane Hadaka', men med god regenerations-evne som hos 'Golden Promise'. Ved endimensional elektroforese er der fundet forskelle i proteinerne fra kallus af de to sorter. (Renate Lührs).

Publikationer

- Jensen, C.J., 1988: Biotechnology: Barley cell and tissue culture. - "Barley Genetics V", Okayama, Japan: 493-501.
Jørgensen, R.B. and B. Andersen: Karyotype analysis of regenerated plants from callus cultures of interspecific hy-

brids of cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). - Theor. Appl. Genet. (under trykning).

Jørgensen, R.B. and R. von Bothmer, 1988: Haploids of *Hordeum vulgare* and *H. Marinum* from crosses between the two species. - Hereditas 108: 207-212.

Jørgensen, R.B. and B. Andersen: Culture of isolated barley microspores. Selection of viable and embryogenic grains. - Proc. Internat. Congress on Genetic Manipulation in Plant Breeding (eds C.J. Jensen & C.N. Law), Plenum Press (under trykning).

Nielsen, K.A.: Polyamine content in relation to embryo growth and dedifferentiation in barley (*Hordeum vulgare* sp.). - Proc. Internat. Congress on Genetic Manipulation in Plant Breeding (eds C.J. Jensen & C.N. Law), Plenum Press (under trykning).

Schou, O., L.H. Pedersen and R. Lührs: Embryospecific proteins in barley: Electrophoretic and immunological analyses. - Proc. Internat. Congress on Genetic Manipulation in Plant Breeding (eds C.J. Jensen & C.N. Law), Plenum Press (under trykning).

Foredrag

Jørgensen, R.B.: Celle- og vævskulturmetoder i plantebiologi. - Slagteriskolen i Roskilde, 8. september.

Jørgensen, R.B.: Elektroporation af byg-pollen. - Workshop om transformation af planteceller, Aarhus Universitet, 13. oktober.

Jørgensen, R.B.: Transformation af planteceller. - Præsentationsmøde for Bioteknologisk Center for Planter, Den Kgl. Vet.- og Landbohøjskole, 9. november.

2.3. Genetik og resistensbiologi

I planteforædlingen fremskaffes, bearbejdes og udnyttes arvelig variation i kulturplanterne med henblik på at udvikle nye sorter med højt udbytte, god kvalitet og resistens mod plantesygdomme. Kvalitetsegenskaberne kan være af dyrkningsmæssig, teknisk eller ernæringsmæssig art, medens resistens mod plantesygdomme bidrager til høje, stabile udbytter og reduceret pesticidforbrug. En af forudsætningerne for effektiv planteforædling er viden om de gener, der betinger de ønskede egenskaber, genernes placering på kromosomerne, kromosomernes opbygning og genetisk rekombination. Vort arbejde inden for disse områder har til formål at frembringe grundlæggende og anvendelsesorienteret viden om kulturplanterne. Der lægges især vægt på byggens genetik, på at etablere metoder og teknik til planteforædling og på at tilvejebringe planter med gener for de ønskede egenskaber.

2.3.1. Kromosomundersøgelser

Kromosomidentifikation og genlokalisering er to snævert forbundne problemer. Gener kan ikke lokaliseres på et bestemt kromosom, uden at kromosomets identitet er kendt. Hos mange arter kan de enkelte kromosomer identificeres på de specifikke mønstre af stærkt farvede tværbånd, der fremkommer ved båndfarvning. Således kan man identificere de syv kromosomer hos dyrket byg på deres båndmønstre. Båndmønstrene er artsspecifikke og kan bl.a. anvendes til identifikation af artshybrider på celleniveau. Desværre består båndmønstrene hos mange arter af få bånd og er derfor mindre anvendelige til lokalisering af gener. Hos dyrket byg fx er de fleste bånd ydermere placeret i de dele af kromosomerne, der er uden kendte gener. Gener, eller DNA-sekvenser, der findes i mange kopier i et kromosom, kan imidlertid lokaliseres på kromosomet ved "in situ hybridisering". Grundlaget for denne teknik er sammensmeltning af en mærket, isoleret DNA-sekvens med den tilsvarende sekvens på et eller flere kromosomer. Efter en farvereaktion kan man iagttage, hvor på kromosomet(erne) DNA-sekvensen sidder.

Båndfarvning er anvendt til udarbejdelse af kromosomkort hos 31 *Hordeum*-arter. Variationen i båndmønstre mellem de fleste arter er for lille til sikker artsadskillelse. Mønstrene hos dyrket byg (*Hordeum vulgare*) og den nærtbeslægtede *H. bulbosum* adskiller sig dog markant fra mønstrene hos de øvrige arter. Båndfarvning er også anvendt til undersøgelse af antallet af kromosomer på forskellige udviklingstrin hos hybrider mellem vild og dyrket byg. På et tidligt udviklingstrin var variationen i antal kromosomer større, end vi tidligere har fundet i materiale af mere end et halvt år gamle hybrider. *In situ*-hybridiseringsteknikken til lokalisering af gener på kromosomer er indarbejdet med en prøve af ribosomalt DNA (rDNA) fra byg. Anvendt på kromosomer af en vild bygart afslørede den tilstedeværelsen af kromosomsegmenter med manglende rDNA-aktivitet i et bestemt kromosompar. Sådanne segmenter kan ikke identificeres sikkert med andre metoder. (Ib Linde-Laursen).

2.3.2. Duplikation af loci for proteinkvalitet i byg

Med henblik på at forbedre kvaliteten af bygkernes protein og samtidig bevare et højt kerneudbytte, arbejder vi på at indbygge en ekstra

kopi (duplikere) det kromosomsegment, der koder for et af de lysinrige lagerproteiner (protein Z). Vi vil foretage duplikationen ved udnyttelse af reciprokke kromosomtranslokationer. For at kunne fremstille duplikationen og for at kunne gøre dette med færrest mulige negative virkninger som fx nedsat udbytte m.v., er det nødvendigt at kende placeringen af locus for protein Z ret nøjagtigt i forhold til øvrige loci på kromosomet. Det er endvidere absolut nødvendigt at have translokationslinier med brudpunkter placeret tæt ved og på begge sider af protein Z locus. I koblingsundersøgelserne har vi lokaliseret isoenzymgenet *Ndh1* (NADH dehydrogenase) til en position 9 rekombinationsenheder fra locus *f9* (chlorina seedling), som ligger yderst på den ene ende af kromosom 4. Bestemmelse af positionen af generne, der koder for protein Z (*Paz4*) og beta-amylase (*Bmy1*) på kromosom 4, gav os nogle uventede problemer, som dog nu er løst. Vi har nu de data, der skulle gøre det muligt at beregne koblingskort-positionerne for *Paz4* og *Bmy1* på kromosom 4. Iøvrigt henvises til oversigtsartiklen: "Koblingskort". (Jens Jensen).

2.3.3. Afvigende nedarvning af *lys3a*-genet

Højlysin-genet *lys3a* i mutant 1508 nedarves meget afvigende i afkommet fra krydsninger med bestemte sorter, fx WNA ('White Naked Atlas'), 'Beecher' og 'Crypt'. Reciprokke krydsninger mellem mutant 1508 og hybrid WNA x 1508 har vist, at WNA indeholder en faktor, som påvirker transmissionen af *lys3a* genet i de hanlige gameter. Påvirkningen er meget stor, idet udspaltningsforholdet for *lys3a* i hybridens pollen kun er ca. 1:20 mod forventet 1:1. De hunlige gameter påvirkes ikke af denne faktor, hvis natur det endnu ikke er lykkedes at bestemme nærmere. (Hans Doll).

2.3.4. Genetiske markører og kvantitative egenskaber i byg

Talmateriale fra udbytteforsøg med to serier af kromosomfordoblede monoploide linier er analyseret for mulige sammenhænge imellem genetiske markører og kvantitative egenskaber. Resultaterne viser blandt andet 1) at et gen for tidlighed/kort strå i locus *ea-k* på kromosom 5 øger kerneudbyttet med ca. 10%, og at et andet gen for tidlighed/kort strå med ukendt beliggenhed øger udbyttet med ca. 7%, 2) at markørgen *s* (langt hår på bugstilk) på kromosom 7 er koblet til et locus



Samlingen af stamkulturer af bygmeldug på Risø. Isolaterne dyrkes på unge bygplanter ved 2-3°C og holdes isoleret i lampeglass.

kw for 1000-kornsvægt med ca. 26% rekombination, 3) at tre mutant-resistensgener i locus *ml-o* på kromosom 4 reducerer kerneudbyttet med ca. 4%, og 4) at nogle markører, fx loci *Est4* på kromosom 4, *Ml-a9* og *Ml-k* på kromosom 5 og kromosombånd 7s3 og locus *ddt* på kromosom 7, er uafhængige af de målte kvantitative egenskaber. Materialet er bearbejdet i en hovedopgave til agronomstudiet og forberedes nu til publikation. Der er i forbindelse hermed udarbejdet en metode til identifikation og lokalisering af gener, der kontrollerer kvantitative karakterer i de såkaldte QTL (quantitative trait loci). Et QTL for 1000-kornsvægt (locus *kw*) er identificeret og lokaliseret på kromosom 7. Se endvidere oversigtsartiklen: "Koblingskort". (V. Haahr, Jens Jensen, H.P. Jensen, J. Helms Jørgensen og Birgitte Kjær).

2.3.5. Nye meldugresistensgener

Ca. 530 linier og populationer af almindelig byg (*Hordeum vulgare*) fra Etiopien og Den Nære Orient er i 1988 afprøvet for meldugresistens i mark-

forsøg. Enogtredive linier var resistente. Ca. 100 linier og enkeltplanteafkom fra tidligere års afprøvninger var også udsået; 32 var resistente. Blandt 154 populationer og linier fra USA og New Zealand af krydsninger mellem dyrket byg og *H. spontaneum* og *H. bulbosum* var 9 resistente. De udvalgte, resistente linier skal afprøves yderligere for at identificere de linier, der har nye resistensgener. (J. Helms Jørgensen).

2.3.6. Mutationer i meldugresistensgener

Genetiske analyser af mutanter for meldugmodtagelighed i bygsorten 'Sultan' har vist, at meldugresistens betinget af genet *Ml-a12* er styret af genetiske enheder i selve *Ml-a12* genet og af mindst tre "suppressor"-gener. Et af disse gener er undersøgt for effekt på 18 andre meldugresistensgener. Syv af disse blev ikke påvirket af "suppressoren", fem viste svage og uklare reaktioner, og seks blev tydeligt påvirket. Påvirkningerne var uafhængige af resistensgenernes kromosomale beliggenhed, dominansforhold og infektionstype. De to øvrige er brugt i krydsninger

for at undersøge deres effekt på syv udvalgte resistensgener. I forbindelse med disse forsøg er det påvist, at generne *Ml-c*, *Ml-(i402)* og *Ml-(Em2)* er nært koblede til *Ml-al2*.

Med henblik på at udvide mutations-analysen til andre gener end *Ml-al2* er der i 1988 foretaget mutagen behandling af byglinier med generne *Ml-a*, *Ml-a6*, *Ml-g* og *Ml-h*. (J. Helms Jørgensen).

2.3.7. Virulensgener i meldugsvampen

Krydsningsafkom af to meldugisolater, der var udvalgt som værende forskellige i virulens svarende til meget anvendte resistenser, og hvis korresponderende virulensloci ikke tidligere har været undersøgt, er nu analyseret. Afkommet viste sig at spalte i 17 forskellige virulensloci, hvoraf de 13 svarer til i forvejen kendte resistensgener. De 4 øvrige virulensloci indikerer tilstedeværelse af 4 nye resistensgener. Tilstedeværelse af de mange samtidigt spaltende virulensloci gav anledning til en omfattende koblingsanalyse, der resulterede i 4 koblingsgrupper, der omfatter

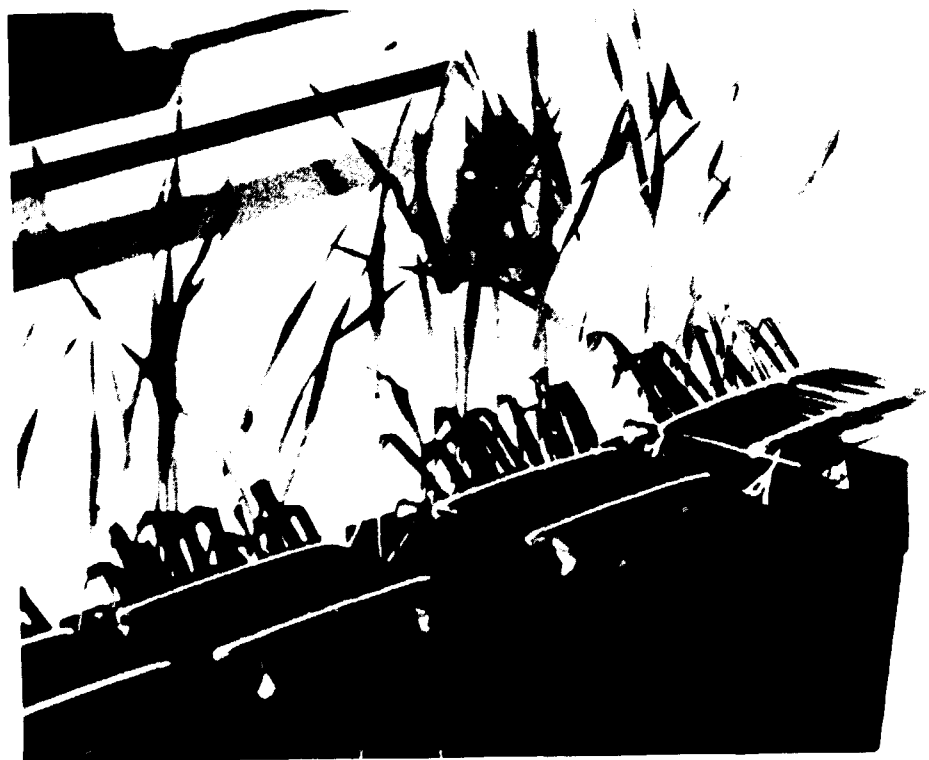
henholdsvis 12, 3, 1 og 1 loci. Resultatet viser, at en del resistenser enten omfatter to eller tre nært koblede resistensgener, eller at nogle resistensgener kan have to eller tre korresponderende virulensloci. (H.P. Jensen, Jens Jensen og J. Helms Jørgensen).

2.3.8. Meldugsvampens aggressivitet over for Mlo resistent byg

Meldugresistensgenet *ml-o* er blevet en af de vigtigste resistenskiider i bygforædlingen i Europa. Mlo resistensen er formentlig stabil og effektiv over for alle meldugisolater. Vore undersøgelser har til formål at belyse, om meldugsvampen vil være i stand til helt eller delvis at overvinde Mlo resistens.

Måling af kvantitative forskelle i aggressivitet kræver fintfølelse, hurtige og reproducerbare metoder. Vi har derfor foretaget omfattende nyudvikling og optimering af metoder til dyrkning af planter og inokulum samt til registrering af melduggens udviklingsforløb.

Første blad af unge bygplanter monteret vandret på plexiglasplader. Bladene inokuleres med forskellige meldugisolater. Efter 5-10 dage måles infektionsfrekvens og latenstid for at bestemme isolaternes aggressivitet på Mlo resistent byg.



Til en del af undersøgelserne har vi anvendt to tyske meldugisolater, GE3 og HL3/5. GE3 er ikke-aggressivt, og HL3/5 er selekteret ud fra GE3 under laboratorieforhold for forøget aggressivitet over for genet *ml-o9*. GE3's kolonier stammer næsten udelukkende fra infektion i biceller til læbeceller. Det gælder sandsynligvis også for alle andre meldugisolater, som ikke har vist forøget aggressivitet. HL3/5's større aggressivitet skyldes en stærkt forøget evne til at angribe de øvrige epidermisceller.

Isolat GE3 har i vore forsøg en meget lav aggressivitet på Mlo resistent byg målt ved procent konidier, som etablerer kolonier (infektionsfrekvens) og en latenstid på 9-10 dage. HL3/5 har cirka 60 gange højere infektionsfrekvens end GE3 og en latenstid på 7-8 dage. På modtagelig byg er infektionsfrekvensen for HL3/5 dog ca. 8 gange større end på Mlo resistent byg og latenstiden 5-6 dage, hvorfor HL3/5 ikke kan betegnes som Mlo virulent. På modtagelig byg har HL3/5 ikke vist signifikant nedsat infektionsfrekvens i forhold til GE3.

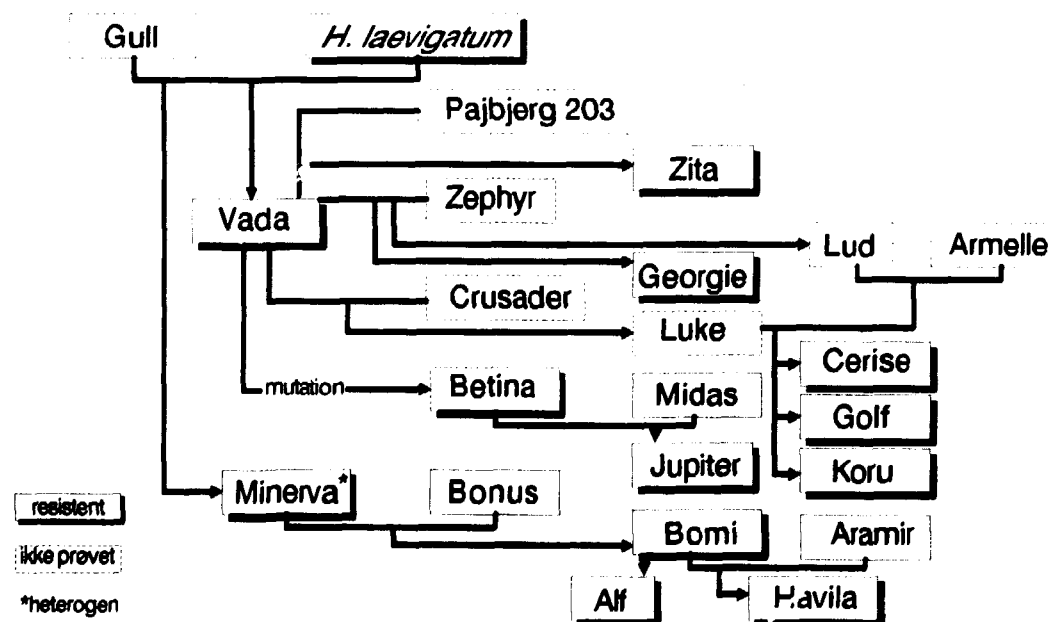
For at undersøge variationen i aggressivitet i meldug i Danmark er der indsamlet 200 isolater fra Mlo resistent byg på seks lokaliteter på Sjælland. De skal sammenlignes indbyrdes og med 120 isolater indsamlet på modtagelig byg. Vi har

udført krydsninger mellem HL3/5 og seks ikke-aggressive isolater for at undersøge nedarvningen af Mlo aggressivitet. (Lars Andersen og J. Helms Jørgensen).

2.3.9. Resistens mod bygstribesygge

Ved analyser af nedarvningsforholdene for bygstribesygge fandt vi høj resistens i en række bygsorter, der ikke er beslægtede med Vada-resistente sorter. Der er indledt undersøgelser af, om resistensen i disse sorter er forskellig fra Vada-resistensen. Desuden er der iværksat en undersøgelse af virkningen af resistens og afsvampning på byg udsat for stribesygesmitte. Vada-resistens er tidligere fundet enkelt-gen betinget i monoploide linier fra krydsningen 'Zita' x CI6944. Samme krydsning spalter også for *Laevigatum* meldugresistensgenet, *MI-(La)*. Analyse af de to resistensgeners nedarvning viser nu, at de er koblet med en overkrydsningsprocent på ca. 20. Da vi fra tidligere undersøgelser ved, at *MI-(La)* er koblet med partiel bygrustr resistens, vil det sige, at resistens mod tre forskellige sygdomme her er koblet. Lokalisering på koblingskortet er endnu ikke lykkedes. (V. Haahr, H.P. Jensen og J.P. Skou).

Eksempler på Vada – resistens mod stribesygge i byg



2.3.10 Biologisk bekæmpelse af meldug

Vi har gennemført en række forsøg med bekæmpelse af byg-, agurke-, og begoniemeldug ved hjælp af en gæragtig svamp, *Tilletiopsis* sp. Forsøgene har været tilrettelagt med henblik på at fastlægge svampens evne til at bekæmpe meldug under forskellige miljøforhold samt at få kendskab til, hvordan og i hvilket omfang der forekommer vekselvirkninger mellem *Tilletiopsis* og meldugsvampen.

Der blev opnået en god bekæmpelse af agurkemeldug ved 80-100% relativ luftfugtighed, hvor to *Tilletiopsis*-sprøjtninger med med 3 dages mellemrum gav op til 99% reduktion af antallet af meldugkolonier. I meldugkolonier produceret på blade, der var sprøjtet med *Tilletiopsis*, fandt vi op til 90% reduktion i antal konidier i forhold til produktionen på ubehandlede blade. Undersøgelser i scanning-elektronmikroskop i samarbejde med Plantepatologisk Institut, KVL, har vist, at væksten af *Tilletiopsis* er koncentreret omkring melduggens hyfer, konidiebærere og konidier. Ved en anden metode, hvor sporefaldet af *Tilletiopsis* fra melduginficerede blade måles, er der ligeledes vist større koncentration af *Tilletiopsis* i meldug-kolonierne.

Der er udført et markforsøg med bekæmpelse af bygmeldug på sorterne 'Golf' og 'Proctor' ved et lavt smittetryk af meldug. *Tilletiopsis*-svampen var i stand til at overleve en tør periode, så der i en efterfølgende fugtig periode kunne opnås ca. 70% *Tilletiopsis*-dækning af bladene (målt ved sporefaldet). Der blev samtidig registreret op til 87% bekæmpelse af melduggen. Metoderne til forsøg med begoniemeldug er under udvikling. (Inge Knudsen og J.P. Skou).

Publikationer

- Bothmer, R. von, M. Bengtsson, J. Flink and I. Linde-Laursen, 1988: Complex interspecific hybridization in barley (*Hordeum vulgare* L.) and the possible occurrence of apomixis. - Theor. Appl. Genet. 76: 681-690.
- Bothmer, R. von, R.B. Jørgensen and I. Linde-Laursen, 1987: Natural Variation, Phylogeny and Genetic Resources in *Hordeum*. - In: "Barley Genetics V". Okayama, Japan: 23-33.
- Bothmer, R. von, J. Flink, N. Jacobsen and R.B. Jørgensen: Variation and differentiation in *Hordeum marinum* (Poaceae). - Nord. J. Bot. (under trykning).
- Doll, Hans and Rex N. Oram: Deviating Mendelian segregation of barley gene *lys 3a*. Brief report. - Hereditas (under trykning).
- Doll, Hans, Vagner Haahr and Bodil Søgaard: Relationship between vernalization requirement and winter hardiness in doubled haploids of barley. - Euphytica (under trykning).
- Donaldson, Iain A. and J. Helms Jørgensen, 1988: Barley Powdery Mildew 'Invertase' is an Alpha-glucosidase. - Carlsberg Res. Comm. 53: 421-430.
- Jensen, H.P., 1988: Powdery mildew resistance genes in new barley varieties. (Abstract). - Nordisk Jordbrugsforskning 70(4): 533.
- Jensen, J., 1987: Linkage map of barley chromosome 4. - In: "Barley Genetics V". Okayama, Japan: 189-199.
- Jensen, Jens, 1988: Coordinator's report: Chromosome 5. - Barley Genetics Newsletter Vol. 18 (under trykning).
- Jørgensen, J. Helms, 1987: Three kinds of powdery mildew resistance in barley. - In: "Barley Genetics V", Okayama, Japan: 583-592.
- Jørgensen, J. Helms, 1988: Many race-specific resistance genes - one hypersensitive resistance reaction. How? - In: Proc. 7th European and Mediterranean Cereal Rust Conf. (ed. B. Zwart): 74-76.
- Jørgensen, J. Helms: Genetic analysis of barley mutants with modifications of powdery mildew resistance gene *ML-a12*. - Genome 30: 129-132.
- Jørgensen, J. Helms, 1988: Coordinator's report: Disease and pest resistance genes. - Barley Genetics Newsletter Vol. 18 (under trykning).
- Jørgensen, J. Helms, 1988: Screening of *Hordeum vulgare* for powdery mildew resistance. (Abstract). - Nordisk Jordbrugsforskning 70(4): 529.
- Kjær, Birgitte, 1988: Sammenhænge mellem genetiske markører og kvantitative egenskaber hos kulturplanter (hovedopgave). Riso-I-382, pp 97.
- Knudsen, I.M.B. og J.P. Skou, 1989: Biologisk bekæmpelse af agurkemeldug med *Tilletiopsis*-arter. - Vækstskyddsnitser 1-2: 19-24.
- Knudsen, J. Chr. Nørgaard, H.-H. Dalsgaard and J. Helms Jørgensen, 1987: Partial resistance to barley powdery mildew. - In: "Barley Genetics V". Okayama, Japan: 645-650.
- Konishi, T. and I. Linde-Laursen, 1988: Spontaneous chromosomal rearrangements in cultivated and wild barleys. - Theor. Appl. Genet. 75: 237-243.
- Linde-Laursen, I., 1988: Giemsa C-banding of barley chromosomes. V. Localization of breakpoints in 70 reciprocal translocations. - Hereditas 108: 65-76.
- Linde-Laursen, I. and R. von Bothmer, 1988: Elimination and duplication of particular *Hordeum vulgare* chromosomes in aneuploid interspecific *Hordeum* hybrids. - Theor. Appl. Genet. 76: 897-908.
- Linde-Laursen, I. and R. von Bothmer: C-banding in the analysis of interspecific hybrids. - Proc. Internat. Congress on Genetic Manipulation in Plant Breeding

(eds C.J. Jensen & C.N. Law), Plenum Press (under trykning).

Skou, J.P., 1988: Vada resistens mod stribesygge. - *Planteforædlings-Nyt* 56: 15-18.

Skou, J.P., 1988: Opdeling af *Helminthosporium* - hvorfor det? - *Medd. Plantepat. Nomenklaturudvalg* 10: 5-6.

Skou, J.P. (ed.), 1988: Meddelelser fra Plantepatologisk Nomenklaturudvalg (ISSN 0900-5102) nr. 10, 6 s.

Skou, J.P., 1988: Physiology of the *MI-0*-resistance. - *Nordisk Jordbrugsforskning* 70(4): 535.

Skou, J.P. and V. Haahr: Inheritance of resistance to barley leaf stripe. - *Barley Genetics Newsletter* Vol. 18 (under trykning).

Skou, J.P., V. Haahr og J. Helms Jørgensen, 1988: Bekæmpelse af frøbårne sygdomme i vårbyg. - *Tidsskr. Landøkonomi* 175: 137-151.

Poster

Jensen, H.P., J. Helms Jørgensen and J. Jensen: Linkage studies on barley powdery mildew virulence genes. - 5th Internat. Congress Plant Pathology, Japan, 20-27 August.

Jensen, J. and Birgitte Kjær: Locating a locus for the quantitative character single kernel weight in barley chromosome 7. - Internat. Congress on Genetic Manipulation in Plant Breeding, EUCARPIA, 11-16 September, Helsingør.

Foredrag

Doll, Hans: Bioteknologi og gensplejsning i landbruget. - *Vardeegnens Landboforening*, 12. januar.

Doll, Hans: Bioteknologisk Center for Planter. - Præsentationsmøde for Biologisk Center for Planter, Den Kgl. Vet.- og Landbohøjskolen, 9. november.

Doll, Hans: Omstillings- og fornyelsestendenser i landbruget. - Dialogshop om bioteknologi, Kollekole, 6. december.

2.4. Planternærings og miljø

Formålet med dette forskningsområde er at belyse de grundlæggende biologiske og kemiske processer, der styrer omsætningen af plantennæringsstoffer og organisk stof i jorden samt planternes udnyttelse af næringsstofferne. En del af dette arbejde er i årets løb blevet knyttet til SJVF-initiativet "Mikrobielle processer i rodzonen". Deltagelsen i dette initiativ har givet øgede samarbejdsmuligheder med andre institutter, der forsker i rodzonens biologi. Binding, omsætning og tab af kvælstof ved ærte dyrkning er centralt i gruppens arbejde. Risø var den 9. marts vært for

et seminar om ærte dyrkningens problemer og muligheder.

I samarbejde med helsefysikafdelingen har vi startet nye undersøgelser over planternes optagelse af cæsium.

2.4.1. Ærtemutanter

For at skaffe et overblik over, hvilke og hvor mange arveanlæg der er vigtige for optimal kvælstofbinding i ærter, undersøges en samling på ca. 50 mutanter. Der synes at være over 20 forskellige mutantgener, hvoraf de fleste er recessive og et enkelt dominant. Mutanterne karakteriseres biokemisk og fysiologisk. Iøvrigt henvises til oversigtsartiklen: "Ærtemutanter". (Kjeld Engvild).

2.4.2. Ærte-rhizobier i danske jorder

En undersøgelse over forekomst og effektivitet af ærte-rhizobier i 44 danske jorder er afsluttet. De fleste dyrkede jorder indeholdt mellem 1000 og 10000 ærte-rhizobier pr. gram. I en enkelt dyrket jord blev der ikke fundet ærte-rhizobier. Det drejede sig om stærkt sure pletter (pH 4,7) i en ærtemark tæt ved Arnborg brunkulsleje, hvor ærterne manglede rodknolde. I en sur mosejord og en sur skovjord blev der heller ikke påvist ærte-rhizobier (under 5 pr. gram). Rhizobietal for ærter synes at være lidt lavere end rhizobietal for kløver.

Jordsuspensioner af ni jorder blev brugt som rhizobie-podemateriale i karforsøg med ærter dyrket udendørs til modenhed i vermiculit. Fem jordsuspensioner var ganske effektive. Den ene af dem var lige så effektiv som kommerciel ærte-inokulant. Udyrket mosejord og klitsand med strandært var ineffektive som rhizobie-podemateriale, mens opdyrket hedejord og Lammefjords-jord sommetider viste lav effektivitet og sommetider god effektivitet. (Kjeld Engvild).

2.4.3. Kvælstofbindingens fysiologi

I forlængelse af vore tidligere studier af fysiologien bag N-binding i symbiosen mellem bælgplanter og *Rhizobium*-bakterier er betydningen af rodknoldens kuldioxid (CO₂)-binding blevet nærmere belyst. Vi har, som de første, direkte påvist, hvorledes mørkebinding af CO₂ i plantedelen af rodknolden forsyner rodknoldens bakterier med kulstofforbindelser. Disse kulstofforbindelser understøtter den symbiotiske N-binding. De opnåede resultater yder et vigtigt bidrag til vor for-

ståelse af spillet mellem planter og bakterier i den symbiotiske N-binding.

N-bindingens fysiologi er undersøgt hos 'Rondo' ært og en mutant (*nod₃*) heraf, som danner langt flere rodknolde end moderplanten. Rodknoldene af *nod₃* har vist sig at have lavere aktivitet af et enkelt af enzymerne, der indgår i assimileringen af det bakterielt bundne N. Der er ligeledes fundet forskelle i sammensætningen af de N-forbindelser, der stammer fra N-bindingen, og som transporteres op til plantens top. Vi har endvidere fundet, at *nod₃* forbruger en større andel af sin energi på vækst og vedligeholdelse af rodsystemet end moderplanten 'Rondo'.

I en undersøgelse af N-assimilationsmønstrene hos ærtemutanter anvendte vi to mutanter, der var dannet ud fra *nod₃*. Den ene (FNI) danner ligesom *nod₃* mange knolde, men er i modsætning til *nod₃* ikke i stand til at binde N. Den anden (KN7) danner slet ikke rodknolde og kan derfor ikke binde N. Foreløbige resultater af disse undersøgelser viste store forskelle i mutanternes N-assimilationsmønstre. (Lis Rosendahl).

2.4.4. Mykorrhiza

Vesikulær-arbuskulær mykorrhiza (VAM) forøger mange plantearters optagelse af næringsstoffer fra jorden. I forbindelse med SJVF-initiativet "Mikrobielle processer i rodzonen" undersøges VAM-myceliets betydning for transport og omsætning af næringsstoffer i rodzonen.

Metoder til ekstraktion og kvantificering af VAM-myceliet er indarbejdet. Metoderne omfatter vådsigtning, membranfiltrering og mikrosko-

pisk opmåling. Den levende del af myceliet bestemmes efter inkubation i et tetrazolium-salt, der reduceres til rødt formazan af et aktivt elektrontransportsystem. Orienterende undersøgelser viste en mycelietæthed på 15 cm pr. cm inficeret rod hos agurk 30 dage efter fremspiring, hvor 70% af rodlængden var inficeret. Omkring 80% af myceliet var levende.

Studier af VAM-myceliets samspil med forskellige jordbundsfaktorer udføres lettest, når myceliet er rumligt adskilt fra rødderne. Dette kan opnås ved at indskyde et net, der bremser rødderne men tillader passage af de tyndere svamphyfer. Princippet udnyttes i nykonstruerede dyrkningsenheder, hvor jordprøver eller enkeltplanter kan udtages uden at forstyrre resten af systemet.

VAM's indflydelse på rodrespirationen (CO_2 -udvikling) er undersøgt hos ært og agurk. Som tidligere havde VAM ingen effekt på rodrespiration hos ært. Benomyl, som hæmmer VAM-svampe, havde en negativ effekt på fosforoptagelsen hos VAM-inficerede planter, medens CO_2 -udviklingen var upåvirket. Hos 7-20 dage gamle agurkeplanter med en veludviklet VAM allerede 7 dage efter fremspiring øgede VAM den totale og den specifikke rodrespiration med 20-30%.

Arbejdet med identifikation af VAM-svampe er fortsat og udvidet til at omfatte jordprøver fra startkarakteriseringen af arealer på Foulum, Ødum og St. Jyndeved forsøgsstationer. Der er indtil nu påvist en del kendte arter og identificeret to nye arter, der får navnene *Glomus fistulosum* og *Glomus fragistratum*. (Iver Jakobsen og J.P. Skou).

Porrer dyrket med og uden VAM-podning i dazomet-desinficeret jord.



2.4.5 Efterafgrøder

Dyrkning af efterafgrøder i efterårs- og vintermånederne med det formål at "fange" mineraliseret N og dermed reducere udvaskningen af kvælstof har fået større aktualitet. Kvælstofoptagelsen i efterafgrøder etableret i og efter vårbyg og markært, omsætning af efterafgrøde-materiale i jorden og indflydelsen af efterafgrøder på udbyttet af den efterfølgende afgrøde er undersøgt i 1987-88.

Udbyttet af 'Solara' markært blev reduceret op til 40% ved samtidig såning af rajgræs, medens rajgræs ikke havde indflydelse på udbyttet af vårbyg i sommeren 1987. Rajgræs, gul sennep og honningurt efterafgrøder optog 35 kg N/ha fra høst af ærterne indtil begyndelsen af december. Efter vårbyg blev der optaget ca. 10 kg N/ha mindre end efter markært. Udsæede "spildkornplanter" optog kun beskedne mængder kvælstof. Efterafgrøderne blev fræsset ned og vårbyg sået i foråret 1988. Resultaterne fra dette preliminaire forsøg antyder, at nedmuldning af efterafgrøder kan medføre en reduktion i udbyttet af den følgende vårbygafgrøde.

Halmedmuldning og dyrkning af almindelig rajgræs blev sammenlignet som efterafgrøde til vårbyg. Dyrkning af efterafgrøden medførte en større reduktion i udbyttet af den efterfølgende bygafgrøde end nedmuldningen af halm. Det reducerede udbytte som følge af efterafgrøde i disse forsøg kan dels skyldes immobilisering af kvælstof ved omsætningen af dette materiale, dels en indvirkning på såbedet.

I rammeforsøg blev ¹⁵N-mærket rajgræsmateriale svarende til 42 kg N/ha inkorporeret i jorden i december 1987. Den efterfølgende bygafgrøde havde ved høsttidspunktet optaget 19% af kvælstoffet fra rajgræsmaterialet. Dette viser, at en væsentlig del af det kvælstof, der "fanges" i en efterafgrøde kan mineraliseres i den følgende vækstsæson. (Erik Steen Jensen).

2.4.6. Eftervirkning af ærter dyrket til modenhed

Jorden indeholder normalt mere nitrat efter høst af ært end efter korn. Miljømæssigt kan dyrkning af ært, der ikke skal have tilført kvælstofgødning, derfor være en større belastning end selv ret stærkt kvælstofgødet korn.

Der gennemføres et flerårigt markforsøg til belysning af mulighederne for at kunne nedsætte eller udnytte mængden af efterladt kvælstof bedre. "Grønne marker" er her et vigtigt led, og de

indgår i forsøget med vinter- og vårformer af raps, byg, hvede og rug. (Gunnar Gissel Nielsen, Vagner Haahr og Erik Steen Jensen).

2.4.7. Planteoptagelse og udvaskning af kvælstof fra ærtemateriale

Ved dyrkning af markært til modenhed efterlades betydelige kvælstofmængder i rod og halm. Kendskab til omsætningen af dette materiale er vigtig for at kunne vurdere, i hvor høj grad dyrkning af markært indvirker på udvaskningen af kvælstof. I september 1987 inkorporeredes ¹⁵N-mærket ærteplanterester svarende til 59 hkg tørstof/ha og 145 kg N/ha i små forsøgsrammer og lysimetre. Den milde vinter 1987-88 resulterede i gunstige betingelser for omsætning af organisk stof i jorden, og der blev gennem hele vinteren opsamlet gennemsnitsvand fra lysimetrene.

I ubevoksede lysimetre blev den totale udvaskning af kvælstof (til under 50 cm dybde) fra september 1987 til maj 1988 målt til i alt 114 kg N/ha. Heraf hidrørte 23 kg N/ha fra den nedmuldede ærtehalm, svarende til ca. 16% af kvælstoffet i de tilførte ærteplanterester.

De overjordiske plantedele af vinterbyg, sået i efteråret 1987, og vårbyg, sået i foråret 1988, indeholdt henholdsvis 21 og 8 kg N/ha af kvælstoffet fra planteresterne. Dette viser, at vinterbyg var i stand til at optage lige så meget af det mærkede kvælstof, som der ville være blevet udvasket uden afgrøde. (Erik Steen Jensen).

2.4.7. Bladrandbiller i markært

Bladrandbiller (*Sitona lineatus*) er blevet et større problem ved dyrkning af markærter. Billerne gnaver af bladene, og deres larver invaderer og fortærer rodknolde og skader derved den symbiotiske kvælstofbinding. I samarbejde med Zoologisk Institut ved Planteværnscentret er der i 1988 udført undersøgelser over forekomsten og skadevirkningen af bladrandbiller hos ært i mark- og karforsøg på Risø. Feromon- og klækkefælder blev anvendt til at bestemme invadering og fordeling af dyr i marken gennem hele vækstsæsonen.

I et markforsøg med to ærtesorter belystes indflydelsen af kvælstofgødskning (200 kg N/ha) og bejdsning af udsæden med insekticid på udbytte og N-optagelse hos ærterne. Udbyttet i de ubejdsede og ugødede led var ca. 34 hkg/ha. Kvælstofgødskning og bejdsning øgede i gennemsnit udbyttet med henholdsvis 14 og 10%, men der var

ikke vekselvirkning mellem gødskning og bejdning mod bladrandbiller.

I et karforsøg med ærter udsattes enten hanner, hanner + hunner eller æg, der klækkes til larver. Herved var det muligt at separere skadeeffekterne: bladnav, bladnav + larveskade samt larveskade. Planterne blev høstet ved fuld blomstring. Kun udsætningen af hanner + hunner resulterede i en signifikant reduktion i kvælstofbindingsaktiviteten (acetylenreduktion), tørstofudbyttet af overjordiske plantedele, samt i den totale N-optagelse hos ærterne. Den behandling, der skulle forårsage den største larveskade, mislykkedes, fordi der blev udklækket for få æg. Trods dette støtter resultaterne formodningen om, at den største skadeeffekt af bladrandbillerne kan tillægges larvernes ødelæggelse af rodknolde. (Erik Steen Jensen).

2.4.8. Denitrifikation og bælglantedyrkning

Der er en generel tendens til en større denitrifikation i jord med bælglplanter end i jord med kornafgrøder. Årsagen kan muligvis være, at rodknoldbakterier (rhizobier) er i stand til at denitrificere. I forbindelse med dyrkningen af bælglplanter vil der normalt ske en opformering af disse bakterier i jorden.

Denitrifikationspotentialer af en række ærterodknoldbakterier (*Rhizobium leguminosarum*) er undersøgt i renkultur ved hjælp af acetylen inhiberingsteknik. Det er påvist, at denitrifikationen er almindeligt forekommende hos *R. leguminosarum*-stammer isoleret fra Risø-jord. Enkelte stammer fra England og Holland er også undersøgt, og disse kunne ligeledes denitrificere. Disse bakteriestammers denitrifikation er sammenlignet med en kendt denitrificerende bakterieslægt (*Pseudomonas*) under samme forhold. Denitrifikationshastigheden er af samme størrelsesorden.

Slutproduktet af rhizobiernes denitrifikation er også undersøgt. Både i minimalmedium og i gærekstraktmedium med rigeligt nitrat produceres lattergas (N_2O) og frit kvælstof (N_2) med nogenlunde samme hastighed. (Finn Bertelsen).

2.4.9. Planternes optagelse af cæsium

I samarbejde med Helsefysikafdelingen har vi genoptaget studiet af planternes optagelse af radioaktivt cæsium. Undersøgelserne omfatter en analyse af kornprøver fra 1986, leveret af Tystofte planteavlstation. Desuden har vi gennemført et karforsøg, hvor vi har dyrket planter i svensk

jord, der er forurenet med radioaktivt cæsium fra Tjernobyl, og i en dansk standardjord. I begge tilfælde er der tilsat radioaktivt cæsium, henholdsvis ^{134}Cs og ^{137}Cs . Formålet med dette forsøg er at sammenligne optagelsen af Tjernobyl-Cs og fall-out-Cs fra undersøgelserne i 1960'erne. Det kan give oplysninger om, i hvilken udstrækning vi kan udnytte erfaringerne fra de mange undersøgelser af fall-out-Cs i en situation som efter Tjernobyl. Analysearbejdet er ikke afsluttet, men de foreløbige resultater tyder på betydelige forskelle. (Gunnar Gissel Nielsen).

Publikationer

- Bertelsen, Finn and Gunnar Gissel Nielsen, 1988: Oxidation of sulphite originating from flue gas desulphurization waste in soil. - *Environmental Geochemistry and Health* 10: 26-30.
- Bertelsen, F., G. Gissel-Nielsen, A. Kjær and T. Skrydsrup, 1988: Selenoglucosinolates in nature - fact or myth? - *Phytochemistry* 27: 3743-3749.
- Christensen, B.T., F. Bertelsen and G. Gissel-Nielsen: Selenite fixation by soil particle size separates. - *Journal of Soil Science* (under trykning).
- Engvild, Kjeld C., 1989: Number and effectiveness of Pea Rhizobia in Danish soils. - *Acta Agric. Scand.* 39: 3-7.
- Gissel-Nielsen, Gunnar and Finn Bertelsen, 1988: Afsvovlingsprodukter - hvad gør de ved miljøet? - *Miljøværn* 20: 1-8.
- Gissel-Nielsen, Gunnar and Finn Bertelsen, 1988: Inorganic element uptake by barley from soil supplemented with flue gas desulphurization waste and fly ash. - *Environmental Geochemistry and Health* 10: 21-25.
- Gissel-Nielsen, Gunnar and Finn Bertelsen: Ammonia-based flue gas desulphurization waste solution as a nitrogen fertilizer. - *Environmental Geochemistry and Health* (under trykning).
- Gissel-Nielsen, Gunnar, 1989: Selenium intake by plants, animals and humans. - In: "Selenium in Medicine and Biology". Proc. 2nd Congress on Trace Elements in Medicine and Biology, Avoriaz, Frankrig 1988. W. de Gruyter Scientific Publishers, Berlin: 1-10.
- Jakobsen, Iver: MPN estimates of VAM diaspores in cultivated soils. - Proc. of 2nd European Symposium on Mycorrhizae, Prag, Czechoslovakia, 16-22 August (under trykning).
- Jensen, Erik Steen, 1988: Om markærter og kvælstof. - *Erhvervs-jordbruget* 8: 19-22.
- Jensen, E.S., 1988: Ærter og kvælstof. - *Ugeskrift for Jordbrug* 14/15: 384-385.
- Jensen, E.S.: The role of pea cultivation in the nitrogen economy of soils and succeeding crops. - In: Proc. from

- EEC seminar om: Legumes in Farming Systems (under trykning).
- Jensen, E.S. and I. H. Sørensen: Uptake of soil nitrogen by soybean as influenced by symbiotic N_2 -fixation or fertilizer nitrogen supply. - Soil Biol. Biochem. 20: 921-925.
- Mikkelsen, Søren A. og Vagner Haahr, 1988: Ærtebag på Riso. Hvor står vi forsknings- og søgsmæssigt, og hvor skal vi hen. - Ugeskrift for Jordbrug nr. 14/15: 375-377.
- Rosendahl, L., 1988: *Rhizobium* strain effect on N accumulation in pea relates to PEP carboxylase activity in the nodules and asparagine in the root bleeding sap. - In: Proc. EEC workshop Physiological Limitations and Genetic Improvement of Symbiotic Nitrogen fixation. 31 Aug. - 3 Sep. 1987, Cork, Ireland: 51-57.
- Rosendahl, L., 1988: PEPC activity in pea roots is not stimulated by microaerobiosis or high CO_2 levels. - In: Nitrogen Fixation. 100 years after. Proc. 7th Internat. Congress on Nitrogen Fixation (H. Bothe, F.J. de Bruijn and W.E. Newton eds) Köln, FRG: 563.
- Rosendahl, Lis and Kerstin Huss-Danell, 1988: Effects of elevated oxygen tensions on acetylene reduction in *Alnus incana*-*Frankia* symbioses. - Physiologia Plantarum 74: 89-94.
- Rosendahl, Lis and Iver Jakobsen, 1988: Effects of age, supraambient oxygen and repeated assays on acetylene reduction and respiration in pea. - Physiologia Plantarum 74: 77-82.
- Sommer, S.G. and E.S. Jensen, 1988: Anvendelse af biomonitører til bestemmelse af NH_3 -afsætningen i landbrugsjord. - Rapport cj-12-88 fra Miljøstyrelsens Center for Jordøkologi.
- Foredrag**
- Engvild, Kjeld C.: Pea *Rhizobium* diversity in Danish soils. - 15th Nordic Congress in Plant Physiology, Turku, Finland, 1-5. august.
- Gissel Nielsen, Gunnar: Etik og kvalitet i planteproduktionen. - Maribo Landboforening, 29. januar; Hjørring Landboforening, 3. februar; Horsens Landboforening, 4. februar; Vejle Amts Tolvmandsforening, 2. november og Århus Amts Planteavlssudvalg, 1. december.
- Gissel Nielsen, Gunnar: Hvad forventer landbruget af genteknologien? - Grundtvigs Højskole, 17. maj; Folkeuniversitetet, Roskilde, 9. november; Kursus for familierbruget, Roskilde, 7. december.
- Gissel Nielsen, Gunnar: Radioudsendelse om rodzonens biologi, 9 november.
- Gissel Nielsen, Gunnar: Mikronæringsstofferne betydning for planteproduktion og kvalitet. - Næstved Landboforening, 28. november.
- Haahr, Vagner: The role of pea cultivation in the nitrogen economy of soils and succeeding crops. - EEC seminar, Boigneville, Frankrig, 25.-27. maj.
- Jakobsen, Iver: VA-mykorrhiza, betydning for plantevæksten. - Kærehave Landbrugsskole, 7. marts og 22. august.
- Jakobsen, Iver: VA-mykorrhiza under markforhold, betydning og perspektiver. - Temamøde i OIKOS, Københavns Universitet, 9. marts.
- Jensen, E.S.: Kvælstofforsyning ved biologisk kvælstofbinding. - Kursus i økologisk jordbrug, Kærehave Landbrugsskole, 7. februar.
- Jensen, E.S.: N-fiksering, N-balance, gødsning og blandingskulturer. - Indlæg ved Temadag om ærter, Riso, 9. marts.
- Jensen, E.S.: Bælgeplanterne: N-binding og forfrugtsværdi. - Forelæsning ved kurset: Alternativt Jordbrug, Den Kgl. Vet.- og Landbohøjskole, 6. april.
- Jensen, E.S.: Biological N_2 fixation research at Riso National Laboratory. - ASEAN-EEC Workshop on Biological N_2 Fixation Research. Bangkok, Thailand, 22-26. maj.
- Jensen, E.S.: Anvendelse af Carlo Erba NA1500 til total N- og C-bestemmelse i jord og plantemateriale. - Seminar om N-, C- og S-analyse, Schæffergården, 14. september.

3. Andre forskningsopgaver

Antibiotika resistens i *Acinetobacter*. Projektet "Lokalisering af antibiotika resistensgener på plasmider i hospitalstammer af *Acinetobacter calcoaceticus* er blevet afsluttet. Antibiotika-resistens og plasmidindhold i 46 *A. calcoaceticus*-stammer blev bestemt. Stammerne blev undersøgt ved hjælp af radioaktivt DNA, som indeholder de kendte antibiotika resistensgener: kanamycin, tetracyclin og trimetoprim. Med undtagelse af en stamme var det ikke muligt at påvise homologier

mellem de kendte antibiotika resistensgener og plasmid-DNA fra de undersøgte stammer. (Dvora Berenstein).

Identifikation af svampe hos bier. I de senere år er der indført mere end en million bladskærebier fra canadiske avlere af disse bier til danske frøavlere og til forsøg. Hidtil er der ikke fundet sygdomme i disse bier her i landet, men der er modtaget prøver fra Canada med døde bier til under-

søgelse. Heri er der fundet en svagt sporulerende variant af den meget alvorlige *Ascosphaera aggregata*. Desuden er der påvist endnu en art af slægten her i Danmark. Artikel herom er udarbejdet. (J.P. Skou).

Publikationer:

Skou, J.P., 1988: Japanese species of *Ascosphaera*. - Mycotaxon 31: 173-190.

Skou, J.P., 1988: More details in support of the class *Ascosphaeromycetes*. - Mycotaxon 31: 191-198.

Skou, J.P., 1988: Træk af sporecystsvampenes naturhistorie. - Svampe 17: 17-22.

4. Øvrige aktiviteter

Afdelingens medarbejdere har deltaget i koordineringen af forskellige forskningsområder under EF, OECD og IAEA, og har været medlemmer af udvalg og arbejdsgrupper under Nordiske Jordbrugsforskeres Forening, Samnordisk Planteforædling, Arbejdsplanudvalg ved Statens Planteavlsvforsøg, Landbrugsministeriets planteforædlingsudvalg, Statens Jordbrugs- og Veterinærvidenskabelige Forskningsråd og udvalg nedsat af dette råd, Miljøstyrelsens Luftforureningslaboratorium, Miljøværnscentret ved KVL, Dansk Genbanknævn, Mineralstofudvalget under Akademiet for de Tekniske Videnskaber og i Forureningsudvalget under Danmarks Naturfredningsforening, ligesom flere medarbejdere i årets løb har fungeret som censorer, medlemmer af bedømmelsesudvalg og som referees for internationale tidsskrifter.

Temadag. Sammen med Statens Planteavlsvforsøg arrangerede Landbrugsafdelingen den 9. marts en temadag på Risø vedrørende ærtedyrknings problemer og muligheder. Mødets program omfattede både forædlings- og dyrkningsmæssige problemer og gav nyttige oplysninger om forskningsbehov.

EUCARPIA-kongres. I dagene 11.-16. september afholdtes på Marienlyst i Helsingør en international kongres vedrørende "Genetic Manipulation in Plant Breeding - Biotechnology for the Breeder". Næsten 500 biologiske forskere og planteforædlere fra hele verden deltog i kongressen, som var arrangeret af EUCARPIA (European Association for Research on Plant Breeding)

og blev ledet af C. John Jensen, som er formand for den sektion af EUCARPIA, som beskæftiger sig med genteknologi.

Kongressen var delt op i 9 symposier omfattende formelle foredrag, posters, panel diskussioner og workshops. Hovedemnerne for symposierne var de faglige grundelementer i genteknologien: identifikation, mutation, isolation, kloning, manipulation, transformation og ekspression af plantegener. Kendskab og teknikker til disse elementer vil gøre det muligt at programmere planteforædlingsprocesser og at effektivisere og forbedre en produktion af nye, bedre planter og planteprodukter til brug i fremtidens jordbrugsindustrier. Brugen af genteknologiens metoder i jordbrug søges koncentreret om bl.a. sygdomsresistens, anvendelse af miljøsikre beskyttelsesmidler og en direkte skræddersyning af nye planter og planteprodukter.

I tilknytning til kongressen redigerede John Jensen "Programme and Abstract" for kongressen og er redaktør af kongresberetningen, som er under trykning hos Plenum Press, USA.

Nordisk symposium. Umiddelbart før EUCARPIA-kongressen afholdtes i Helsingør: "2nd Nordic Symposium in Cell and Tissue Culture in Biotechnology of Crop Plants". Dette symposium blev også arrangeret og ledet af C. John Jensen.

Cytologi-kursus. Rikke Bagger Jørgensen og Ib Linde-Laursen afholdt i november på Risø et kursus i teknik til Giemsa C-båndfarvning af kromosomer. Ti videnskabelige medarbejdere og studerende fra Landbohøjskolen og Universitetet, København, og Sveriges Lantbruksuniversitet, Svalöv, deltog i kurset.

Dyskærgård. Driften af Dyskærgård er i 1988 forløbet planmæssigt. De klimatiske betingelser for planteavl har været særdeles gunstige, og der har ikke været væsentlige angreb af sygdomme. Høstudbytterne har, bortset fra udbyttet af ært, været tilfredsstillende. Kvægholdet har givet et rimeligt økonomisk resultat.

Omkostningerne ved de miljømæssige foranstaltninger, som kræves for, at kvægholdet kan bibeholdes på Dyskærgård, er endnu ikke afklaret. (Vagner Haahr).

Plantemateriale fra afdelingens forsøg af interesse for planteforædlingsformål stilles til rådighed for danske planteforædlere via "Planteforæd-

lings-nyt". Desuden er der efter anmodning fra danske og udenlandske institutioner og planteforædlere framsendt materiale af forskellige byg- og ærtemutanter. Yderligere er der udført fysisk og kemisk mutagen behandling af plantemateriale for planteforædlingsvirksomheder. Fra afdelingens samling af meldugisolater og resistente sorter har vi leveret materialer til resistensundersøgelser hos danske og udenlandske forædlere og forskningsinstitutioner.

Til brug i biologiundervisningen i HF, gymnasier og seminarier er der i 1988 udleveret 2907 sæt: plantemateriale fordelt på 350 forsendelser. Materialet viser artsforskelle i strålingsfølsomhed, forskellige mutanttyper i byg med klorofyl-defekter og en- og to-gen Mendel-spaltninger.

4.1 Seminarer

14. januar - Karen Koefoed Petersen: "Støvknæk-kulturer i byg".
21. januar - Karsten M. Kragh: "Reguleres transkriptionen af resistensrelaterede gener af nukleære, DNA-bindende proteiner?"
28. januar - Kjeld Engvild: "Eksempler på biokemiske mutanter i planter".
10. marts - Jørgen Larsen, Carlsberg Kornforædling: "Forædlingsprogrammet på Carlsberg".
17. marts - Jytte Møllerup Andersen, Biokemisk laboratorium, De Danske Sukkerfabrikker: "Basale plante-regenerationsaktiviteter på DDS".
14. april - Erik Steen Jensen: "Anvendelse af elementar- og stabil isotopanalyse i undersøgelser over kvælstoffets omsætning i jord-plante systemet".
21. april - Finn Lok Olsen, Carlsberg Kornforædling: "Mikrosporeembryogenese i byg" - Video om cellemanipulering.
5. maj - Lis Rosendahl: "Kulhydrat metabolisme i forbindelse med symbiotisk kvælstofbinding".
19. maj - Lisbeth Mortensen, Miljøstyrelsens Luftforureningslaboratorium: "Gasformige luftforureninger: ozons effekt på plante-vækst".
26. maj - Ole F. Rasmussen, Gensplejningsgruppen: "DNA-prober til detektion af plantesygdomme".
1. juni - Richard Pickering, DSIR, Crop Research Division, New Zealand: "On interspecific hybridization in *Hordeum*".
9. juni - Søren K. Rasmussen: "cDNA for basisk peroxidase fra byg".

16. juni - Renate Lührs: "Somatic embryogenesis, cell and protoplast culture in barley".
22. september - Carroll Vance, University of Minnesota, USA: "Enzymes of nitrogen assimilation in symbiotic nitrogen fixation".
6. oktober - Henriette Giese: "Plasmider i bygmeldug".
20. oktober - Flemming Yndgaard, Sveriges Lantbruksuniversitet, Svalöf: "Nordisk Biometri Projekt".
27. oktober - Roger D. Finley, Dept Microbial Ecology, Lund: "Mycelial uptake, translocation and assimilation of ¹⁵N labelled nitrogen by ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* plants".
3. november - Lars H. Petersen: "Karakterisering af membran proteiner fra *in vivo* og *in vitro* kulturer af byg".
17. november - Janne Brunsted, Biokemisk Laboratorium, De Danske Sukkerfabrikker: "Rhizomania. Molekylær biologisk strategi for resistens i sukkerroer".
1. december - Hans Peter Jensen: "Bygmeldug, virulens og virulensgener".
15. december - Preben Bach Holm, Carlsberg Kornforædling: "Transformation af byg".

4.2. Rejser og studieophold i udlandet

Hans Doll har i oktober og november i Stockholm, Sverige, deltaget i et møde om Nordisk Ministerråds program for Væxtcellbioteknik samt en drøftelse af Nordisk Bioteknologiprogram.

Kjeld Engvild har i august deltaget i XV Congress of the Scandinavian Society for Plant Physiology i Turku, Finland. Kongressen var arrangeret af Societas Physiologiae Plantarum Scandinavica.

Henriette Giese deltog i november i et bioteknologimøde arrangeret af European Institute of Technology. Mødet blev afholdt i Verona, Italien, og efter mødet aflagde HG besøg på Zurich Universitet, Schweiz, og Max-Planck-Institut og Bochum Universitet, Vesttyskland.

Henriette Giese, Hans Peter Jensen, J. Helms Jørgensen, Solveig Krogh Rasmussen og Lone Rossen deltog i februar i Nordisk Resistensbiologisk symposium i Svalöf, Sverige.

Gunnar Gissel Nielsen var i marts inviteret til at deltage i 2nd Congress on Trace Elements in Medicine and Biology, arrangeret af Ass. Française d'Etude et de Tech. sur les elements traces. Mødet blev afholdt i Avoriaz, Frankrig.

Gunnar Gissel Nielsen var i marts inviteret til at deltage i 2nd Congress on Trace Elements in Medicine and Biology, arrangeret af Ass. Française d'Etude et de Tech. sur les elements traces. Mødet blev afholdt i Avoriaz, Frankrig.

Gunnar Gissel Nielsen har desuden deltaget i et planlægningsmøde af et NJF-seminar vedrørende deponering og transport af radioaktivt Cs i jorden. Mødet blev afholdt i Ultuna, Sverige.

Iver Jakobsen deltog i august i 2nd European Symposium on Mycorrhiza i Prag, Tjekkoslovakiet. Symposiumet var arrangeret af CEDOK Institute of Landscape Ecology, Ceske Budejovice.

C. John Jensen har i forbindelse med afholdelsen af EUCARPIA kongres i Danmark foretaget rejser til Cambridge, U.K. for at drøfte arrangementet med professor C.N. Law.

Erik Steen Jensen har i slutningen af maj deltaget i et EF-evalueringsmøde vedr. projektforslag inden for området: biologisk kvælstofbinding i ASEAN landene. Mødet blev afholdt i Bangkok, Thailand, og efter mødet aflagde ESJ besøg på forskellige institutioner i Thailand.

Hans Peter Jensen deltog i august i 5th International Congress of Plant Pathology. Kongressen var arrangeret af Science Council, Phytopathological Society and Plant Protection Association of Japan og blev afholdt i Kyoto, Japan.

J. Helms Jørgensen har i det forløbne år deltaget i flere møder i Norge og Sverige i tilknytning til Nordisk Genbank.

J. Helms Jørgensen har desuden i september deltaget i 7th European and Mediterranean Cereal Rust Conference i Wien, Østrig, og aflagde i forbindelse hermed besøg på Probstdorfer Saat-zucht Gesellschaft.

Inge Knudsen aflagde i maj studiebesøg ved forskellige institutioner i Holland for at drøfte biologisk bekæmpelse af plantesygdomme.

Kirsten Nielsen aflagde i juli et besøg hos Dr. Sacco de Vries på Landbrugsuniversitetet i Wageningen, Holland, for at drøfte analysemetoder.

Karen Koefoed Petersen og Ole Schou deltog i februar i en workshop "Somatic Embryogenesis in Crop Plants" på Max-Planck-Institut, Köln, Vesttyskland. Efter mødet aflagde KKP besøg på et par institutter i Vesttyskland, hvor der arbejdes med stovknækultur.

Solveig Krogh Rasmussen og Lone Rossen deltog i maj i 4th International Symposium on Molecular Genetics of Plant Microbe Interaction i Acapulco, Mexico.

Søren K. Rasmussen har i november deltaget i 2nd International Congress of Plant Molecular Biology i Jerusalem, Israel.

Lis Rosendahl aflagde i februar besøg på Umeå Universitet, Sverige, for diskussion og sammen-skrivning af fælles forsøgsresultater og har desuden i marts deltaget i 7th International Congress on Nitrogen Fixation, der blev afholdt på universitetet i Köln, Vesttyskland.

5. Personale, gæsteforskere og studerende

Afdelingens personale omfattede pr. 31. december 1988 i alt 59 personer inkl. deltidsansatte; personalenormeringen var ved årets udgang på i alt 38 årsværk (16 A- og 22 B-stillinger); 2 licentiatstuderende var aflønnet over Risø's stipendiekonto. Der var ansat 7 A- og 4 B-medarbejdere samt 3 licentiatstuderende på eksternt finansierede projekter og en licentiatstuderende med kandidatstipendium fra KVL, der gennemfører dele af sit projekt på afdelingen. I årets løb har 3 laborantelever haft praktikperioder på afdelingen, og studerende fra KVL og universiteterne har udført hoved- og specialeopgaver eller dele deraf på afdelingen.

5.1 Personale og stipendiater

Andersen, Arna J., afdelingsleder, dr.agro.
Andersen, Bente, laborant

Andersen, Heidi Bech, lab.elev (fra 15/9)
Andersen, Lars, cand.agro. (fra 8/2)
Andersen, Lis Brandt, forsøgsmedhjælper
Andersen, Margit Elm, laboratorietekniker
Berenstein, Dvora, cand.scient.
Bertelsen, Finn, stud.lic.scient.
Brink Jensen, Merete, laboratorietekniker
Djurdjevic, Stanko, teknisk medarbejder
Doll, Hans, centerleder, lic.agro.
Dyrsgaard Jensen, Lone, laboratorietekniker
Engvild, Kjeld, mag.scient.
Gade, Poul, gartner
Giese, Henriette, lic.agro.
Gissel Nielsen, Gunnar, dr.agro.
Hansen, Ina, laboratorietekniker
Hasselbalch, Finn, forvalter
Henriksen, Ebbe, forsøgsformand
Holm-Jensen, Anne Grethe, laboratorietekniker

Haahr, Vagner, driftsleder, lic.agro.
 Ibsen, Elly, laborant
 Jakobsen, Iver, lic.scient.
 Jensen, C. John, B.Sc.
 Jensen, Erik Steen, lic.agro.
 Jensen, Hans Peter, cand.agro.
 Jensen, Jens, lic.agro.
 Johansen, Hanne Bay, laboratorietekniker
 Jørgensen, Jørgen Helms, lic.agro.
 Jørgensen, Malene Leth, lab.elev (fra 1/8)
 Jørgensen, Rikke Bagger, lic.scient.
 Karlisen, Aage, forsøgsassistent
 Kjær, Birgitte, cand.agro. (1/9-30/11)
 Knudsen, Inge, cand.scient.
 Kragh, Karsten M., stud.lic.agro.
 Køie, Bertel, lic.techn.
 Larsen, Elisabeth, lab.elev (1/1-30/4)
 Larsen, Hanne Egerup, laborant
 Larsen, Inge Merete, laboratorietekniker
 Lilholt, Ulla, laboratorietekniker
 Linde-Laursen, Ib, dr.agro.
 Lynghøft, Beth, laborant
 Lührs, Renate, gæsteforsker (fra 1/5)
 Mathiasen, Winnie, kontorassistent (fra 1/3)
 Meltofte, Liselotte, lab.overassistent
 Nielsen, Kirsten, stud.lic.scient. (fra 1/2)
 Nielsen, Vagn Aage, gartner
 Olsen, Anette, laboratorietekniker
 Petersen, Karen Køfoed, cand.hort. (til 31/12)
 Petersen, Lis, overassistent
 Poulsen, Aksel, forsøgsassistent
 Rasmussen, Solveig Krogh, stud.lic.agro.
 Rasmussen, Søren, civilingeniør
 Rasmussen, Ulla, stud.lic.scient. (fra 1/9)
 Rosendahl, Lis, stud.lic.D.
 Schou, Ole, lic.scient.

Sillesen, Anerikke, laborant
 Skou, Jens Peder, dr.agro.
 Skovsgaard Christensen, Bent, forsøgsassistent
 Sloth, Per, medhjælper (1/4-31/10)
 Sørensen, Anni, assistent
 Thomsen, Jørgen D., ingeniør
 Vestesen, Hans, forsøgsassistent

5.2. Udenlandske gæsteforskere

Susanne Bohl, Botanisches Institut, Christian Albrechts Universität Kiel, Vesttyskland (projekt 2.1.).
 Renate Kaiser, Justus-Liebig-Universität, Gießen, Vesttyskland (projekt 2.3.).
 Richard Pickering, Canterbury Agr. and Science Centre, New Zealand (projekt 2.3.).
 Jenne Postma, Vakgroep Genetica, Univ. Groningen, Holland (projekt 2.4.).
 Carroll P. Vance, University of Minnesota, U.S.A. (projekt 2.4.).

5.3. Studerende

Anette Eckholdt, Zoologisk Institut, Den Kgl. Vet. og Landbohøjskole (hovedopgave, projekt 2.4.).
 Birgitte Kjær, Inst. f. Landbrugets Planteavl, Den Kgl. Vet. og Landbohøjskole (hovedopgave, projekt 2.3.).
 Lars Hagsholm Pedersen, Inst. f. plantefysiologi, Københavns Universitet (hovedopgave, projekt 2.2.).
 Gitte Petersen, Botanisk Institut, Den Kgl. Vet. og Landbohøjskole (licentiatopgave, projekt 2.3.).

6. Udvalgte emner

I det følgende gives en uddybende beskrivelse af 2 udvalgte emner fra afdelingens forskningsarbejde.

6.1. Ærtemutanter

Kjeld Engvild

Under indtryk af de to energikriser og den stigende dyrkning af ærter har landbrugsafdelingen i sit kvælstofbindingsprojekt undersøgt forskellige sider af ærternes evne til selv at binde kvælstof fra luften i symbiose (samarbejde) med bakterier

af slægten sidder i små røde knolde på ærternes rødder. Vi vil blandt andet gerne vide, hvor mange arveanlæg ærten bruger, hvad de enkelte anlægs funktion er, og om det eventuelt vil være muligt at forædle for forbedret kvælstofbinding i ært. Risø's undersøgelser har vist, at en ærteafgrøde kan binde omkring 250 kg kvælstof fra luften pr. hektar.

Man kan få en fornemmelse af antallet af gener, der er involveret i kvælstofbindingen, ved at fremstille et sæt mutanter og undersøge, om de er muteret i forskellige gener.



'Finale' ært med normale rodknolde og mutanten Risnod 1 uden rodknolde.

Frø af 'Finale' ært blev behandlet med forskellige mutagene stoffer som natriumazid, ethylmethansulfonat og diethylsulfat, en forbindelse af alkohol og svovlsyre. Efter omhyggelig vask med vand blev de våde frø sået i marken. De overlevende frø spirede, og M_1 -generationen (1. mutant-generation) groede frem. Kun ganske få mutationer kan ses i første generation, og man er derfor nødt til at vente til næste generation. M_2 -frø (2. generation) blev høstet i form af en veludviklet bælge pr. plante.

Mutanter for kvælstofbinding blev isoleret ved at udnytte, at planterne fik symptomer på kvælstofmangel, når de blev dyrket i sand uden kvælstof, men med P- og K-gødning og podet med *Rhizobium*-bakterier. Frøene fra hver bælge blev sået i drivhuset i én række i kasser med sand. Planter, der langsomt blev gule nedefra og opåder, blev taget op af sandet og undersøgt for knolde. Nogle planter dannede overhovedet ikke knolde. Andre planter dannede mange små, underudviklede, hvide eller grønne knolde. Enkelte planter dannede en bunke knolde, superknolddannere. Alle planter, som så ud til at være kvælstofbindingsmutanter, blev pottet i jord, så næste generations M_3 -frø kunne høstes. Et antal planter

havde imidlertid kvælstofmangel-symptomer, blot fordi knoldene var inficeret af svamp, så mutanterne måtte kontrolleres en ekstra gang i 3. generation. Kontrollen skete ved at udnytte, at effektive knolde også kan omdanne acetylen til ethylen, som kan måles ved hjælp af en gaskromatograf. Unge M_3 -planter blev anbragt i lukkede plastkasser med 1% acetylen, og dannelsen af ethylen blev målt ved at sprøjte en luftprøve fra kassen ind i gaskromatografen efter en times forløb. De muterede planter blev opformeret videre. I alt blev ca. 86.000 M_2 -planter undersøgt for kvælstofmangelsymptomer, og efter kontrol i M_3 -generationen var der fundet i alt 60 mutanter. Eksempler er givet i tabel 1.

Vi har således fundet, at 0,07% af M_2 -ærterne var muteret for kvælstofbinding. Det er en ret høj mutationsfrekvens og tyder på, at mange gener er muteret. Mutantsamlingen har vist mange drilagtige egenskaber, som ofte ses efter mutagenbehandling. Adskillige mutanter udspalter afvigende typer over flere generationer, nogle er ustabile, andre næsten sterile, og hos nogle er mutantkarakteren stærkt afhængig af miljøet. Efter at nogle er uddøde og andre kasseret, er der nu ca. 50 mutanter tilbage i 6. generation.

Tabel 1. Ærtemutanter, som ikke kan binde kvælstof, induceret med forskellige mutagener

Behandling	Uden knolde	Ineffektive knolde	Antal M ₂ planter undersøgt
Ethylmethansulfonat 0,1% i 16 timer	10	2	14.462
Natriumazid, NaN ₃ 0,01% i 3 timer	1	3	10.821
Diethylsulfat 0,2% i 16 timer	2	1	5.772
8 andre tider og behandlinger	23	18	55.167
I alt 11 behandlinger	36	24	86.222

Man kan få et skøn over, hvor mange forskellige kvælstofbindingsgener der findes i mutant-samlingen ved at krydse mutanterne med hinanden. Recessive mutanter krydset med hinanden vil få afkom med normale knolde, hvis de er muteret i forskellige gener. Dette sammenkrydsningsarbejde er endnu ikke afsluttet, men de foreløbige resultater tyder på, at der er mere end 10 forskellige gener for manglende knolddannelse og mere end 10 forskellige for ineffektiv knolddannelse. Et af generne for manglende knolddannelse er fundet seks gange. En enkelt mutant forårsager kvælstofmangelsymptomer i afkom efter krydsning med normale ærter og er altså dominant.

Derudover arbejder vi på at karakterisere mutanterne fysiologisk og biokemisk for om muligt at finde de beskadigelser, der er sket. Vi forsøger at opdele mutanterne uden knolde i forskellige klasser: mutanter som ikke krøller rodhår, mutanter som krøller rodhår, men ikke danner infektionstråde, mutanter med aborterede infektionstråde osv. Mutanter med ineffektive knolde undersøges ved hjælp af elektroforese for proteiner og isoenzymer for at finde ud af, hvad der er gået galt. Endnu kender vi ikke nogen primær beskadigelse. Dette arbejde indgår imidlertid i en større sammenhæng på internationalt plan, og mutanterne undersøges i adskillige udenlandske laboratorier sammen med andre mutantsamlinger.

Arbejdet har allerede vist, at mange forskellige arveanlæg i værtsplanten medvirker ved kvælstofbindingen, og det understøttes af molekylær-

biologernes resultater. I øjeblikket undersøges i udlandet, om superknolddannende mutanter og mutanter uden knolde kan bruges direkte som sorter. Superknolddannerne giver i reglen, men ikke altid, dårligere udbytte. Mutanter uden knolde kan i enkelte tilfælde give stort udbytte ved meget høj kvælstoftilførsel. Det er imidlertid mere sandsynligt, at forædling for kvælstofbinding skal gøres med metoder fra den kvantitative genetik, og muligvis er den simpleste procedure den bedste, nemlig at forædle for højt udbytte med højt proteinindhold og god udbyttestabilitet.

6.2. Koblingskort

Jens Jensen

Langt tilbage i tiden har man interesseret sig for arvelighed. Blandt den græske oldtids lærde har navnlig Hippokrates, Platon og Aristoteles indgående beskæftiget sig med arvelighed. Deres manglende biologiske viden forhindrede dem dog i at nå frem til en forståelse. Foruden biologisk viden er også statistik og statistisk forståelse nødvendig for studiet af nedarvningens lovmæssigheder. Et stort antal krydsninger, der er ensartede med hensyn til de karakterer, man ønsker at studere nedarvningen af, er nødvendige. Disse krav har været medvirkende til, at de grundlæggende lovmæssigheder for arveligheden først ret sent blev erkendt. Selv i dag er det et forholdsvis ringe antal arter, vi har et nogenlunde godt arvelighedsmæssigt kendskab til. De grundlæggende

arvelighedsmæssigt kendskab til. De grundlæggende arvelovmæssigheder blev opdaget og beskrevet af Gregor Mendel i 1866, men hans samtid forstod dem ikke eller overså dem. Først 35 år senere blev Mendel's lovmæssigheder genopdaget, og endelig i 1911 opdagede man begrebet kobling, der indebærer, at nogle gener har tilbøjelighed til at følges ad i nedarvningen. Snart derefter blev det klart, at årsagen hertil var, at generne var beliggende på kromosomerne.

De karakterer, der styres af gener på forskellige kromosomer, nedarves uafhængigt af hverandre. Karakterer, der styres af gener på samme kromosom, nedarves derimod mere eller mindre afhængigt af hinanden. Man optæller antallet af de forskellige karakter-kombinationer i en eller flere generationer i et tilstrækkeligt stort materiale. Derved bliver man i stand til at beregne den relative hyppighed af nye genkombinationer, dvs. kombinationer forskellige fra de to forældre, opstået ved at kromosomerne "krydser over". Denne hyppighed, rekombinationsfrekvensen eller overkrydsningsfrekvensen, som er en funktion af afstanden mellem genernes placering på kromosomerne, danner grundlaget for koblingskort. Man kan også sige, at et koblingskort er et kort over, hvor hyppigt generne rekombier, hvorledes generne nedarves. Man er derfor stærkt interesseret i at have gode koblingskort hos mennesket såvel som hos vore økonomisk vigtige dyre- og plantearter.

De højerestående arter, hos hvilke man i dag har nogenlunde gode koblingskort, er bananflue, mus, menneske, majs, tomat, ært og byg. Det bedste kort findes hos bananfluen, som er en af genetikerens eksperimentelorganismer, idet den er lidt pladskrævende og har kort generationstid m.m. Genetikken og koblingskortet hos mus kan betragtes som model for udviklingen af kortene hos mennesket og højerestående dyr.

Koblingskortet hos mennesket er i de senere år blevet veludbygget som følge af opdagelsen af nye teknikker inden for cytologi og genteknologi, men også på grund af de enorme ressourcer, man har sat ind på dette vanskelige område, hvor man ikke kan udføre sædvanlige genetiske eksperimenter.

Hos majs kan man ligesom hos bananfluer nemt lave mange og ensartede krydsninger af den type, man er interesseret i. Som følge heraf kan beregning af rekombinationsfrekvensen blive ret simpel. Desuden kan man nøjes med to generationer, som dog normalt tager 2 år hos majs i modsætning til ca. 20 dage for bananfluen. Kob-

lingsundersøgelser er næsten lige så lette at udføre hos tomat som hos majs. Hos ært og byg derimod er det mere besværligt at udføre krydsninger, og man bruger derfor normalt en ekstra generation, hvori selvbestøvning finder sted. Beregningen af rekombinationsfrekvenserne bliver imidlertid også mere besværlig, men når beregningsforskriften først er lavet, udføres beregningerne let på en datamat.

Hos landbrugsplanterne har selektion indsnævret den genetiske variation af morfologiske karakterer, således at de er blevet for få til at danne grundlag for udviklingen af koblingskort. Dette problem blev løst med muligheden for at inducere mutation ved hjælp af ioniserende stråling og med kemiske forbindelser. Hovedparten af generne på de koblingskort, vi kender i dag, er baseret på inducerede mutationer. Siden har man opdaget et stort antal naturligt forekommende isoenzym karakterer, der ikke på samme måde som de morfologiske karakterer har været udsat for forædlingsmæssig selektion. Disse isoenzym-karakterer er særdeles velegnede i koblingsanalyser, og det samme gælder de såkaldte RFLP (restriktions fragment længde polymorfi) markører, som er kommet til inden for de seneste år. Med RFLP er man i stand til at skaffe sig så mange positioner på koblingskortet, som man kan ønske sig. Endnu er RFLP-teknikken dog noget besværlig og bekostelig at benytte.

Genlokalisering hos byg

Noget af det første, man startede med efter oprettelsen af Risøs landbrugsafdeling, var studiet af, hvordan og hvor effektivt man kunne fremstille mutanter. Til det formål benyttede man klorofyl-mutanter som model. Senere blev mutationsprocessen et middel til at skaffe sig praktisk anvendelige mutanter for stråstyrke, meldugresistens og proteinkvalitet. I de seneste år er man begyndt at mutere planternes gode egenskaber bort - hos byg: meldugresistens, og hos ært: kvælstoffiksering - for derved at få en forståelse af genetikken og kemien, der ligger bag disse egenskaber.

Et af de første spørgsmål, der rejser sig, efter at man ved mutation har fået en ny karakter eller egenskab, er: hvorledes nedarves den? - er mutantgenet beliggende på samme plads (locus) på kromosomet som et af de hidtil kendte gener og dermed allelt med dette? - og hvor er genet beliggende på kromosomerne?

Det lokaliseringsarbejde, der er udført på afdelingen, har for det meste været i tilknytning til

arbejdet med meldugresistens og proteinkvalitet. Dog er der udført meget lokaliseringsarbejde med andre gener, da det er vigtigt at have nogle positioner på kromosomerne at relatere de mere betydningsfulde og interessante gener til.

Strategien, vi vælger for at lokalisere et gen på byggens koblingskort, afhænger af den karakter, genet kontrollerer. Det er imidlertid ofte således, at vi først ved hjælp af cytologiske tester-linier finder ud af, på hvilket kromosom genet sidder. Dernæst lokaliserer vi genet inden for kromosomet ved hjælp af udvalgte markørgener (gener der tidligere er lokaliseret). Hvis vi kan observere selve det produkt, som genet laver, eksempelvis isoenzymer, der direkte kan iagttages på en elektroforese-gel, og hvis det samme produkt ikke laves i hvede, kan man benytte sig af de syv hvede-additionslinier. Disse additionslinier har udover hvedens 21 par kromosomer hver et enkelt par af byggens kromosomer. Genproduktet bliver nemlig kun udtrykt i den additionslinie, der har det bygkromosom, hvorpå genet ligger.

Gener, der kontrollerer morfologiske eller fysiologiske karakterer, kan ikke lokaliseres med denne simple metode. Hertil kan eventuelt benyttes syv trisomiske byglinier. En trisomisk byglinie har et kromosom i tre eksemplarer, mens de øvrige seks kromosomer forekommer i par som sædvanligt. De syv mulige trisomiske linier krydses med vor mutant, og i afkomsgenerationerne vil man få en afvigende spaltning i den krydsningskombination, som er trisomisk for det kromosom, hvorpå mutantgenet ligger. Den trisomiske metode til lokalisering er i princippet simpel og sikker, men i praksis er den ret besværlig og kun anvendelig i få tilfælde. Mutantgenet *ml-o*, der betinger resistens mod meldug, blev lokaliseret til kromosom 4 med denne metode.

En tredje metode, som er mindre afhængig af den karakter, som vort mutantgen kontrollerer, er benyttelse af reciproke translokationslinier. I en translokation er et stykke fra et kromosom ombyttet med et stykke fra et af de andre kromosomer, en slags rekombination mellem forskellige kromosomer. Sådanne translokationer forekommer relativt hyppigt efter en mutagen behandling. Specielle teknikker benyttes til at lokalisere disse translokationer. Ofte ved man kun, mellem hvilke kromosomer der er udvekslet stykker uden at kende nøjere til de givne stykkes identitet. Dette er en stor ulempe, men selv med denne ulempe kan translokationer være hensigtsmæssige at anvende. Benyttelsen af

translokationerne bygger på almindelige rekombinationsbestemmelser. Translokationer kan bruges til at lokalisere gener, der kontrollerer egenskaber af vidt forskellig karakter og udviser kobling med gener, der ligger inden for et forholdsvis stort område midt på kromosomerne. Problemet med at benytte translokationer er, at man ikke kan lokalisere gener, der ligger langt ude mod enderne af kromosomerne. Man krydser i reglen sin mutant med 12-14 forskellige translokationslinier og studerer så spaltningerne blandt 200-300 afkom spalter fra hver krydsning i F_2 -generationen. Fem højlysinmutanter induceret på landbrugsafdelingen er lokaliseret med denne metode, heriblandt mutantgenet for Risø mutant 1508.

Hvis de ovennævnte metoder glipper, må man prøve at finde kobling til konventionelle markørgener. Men at finde kobling på denne måde har været som et lotterispil, hvor man ikke kender chancen for udtrækning. Hvis man råder over tilstrækkeligt gode koblingskort, er det imidlertid muligt systematisk at undersøge for placering af genet i forhold til udvalgte markørgener på alle områder af kromosomerne.

Som eksempler på gener, som vi til trods for store anstrengelser endnu ikke har lokaliseret, kan nævnes isoenzymgenet *Est4* og meldugresistensgenet *ML-(La)*. *Est4* er ved hjælp af både hvedeadditionslinier og trisomiske linier fundet at ligge på kromosom 3, men den nøjere lokalisering på kromosom 3 er hidtil ikke lykkedes til trods for, at kobling er blevet søgt til adskillige markørgener på kromosom 3. Dette hænger formentlig sammen med, at man ikke har haft et ordentligt koblingskort for kromosom 3. Meldugresistensen betinget af *ML-(La)* har været særdeles betydningsfuld i praktisk landbrug. Til trods for adskillige krydsninger til translokationer og markørgener har vi endnu ikke fundet, på hvilket kromosom genet ligger. Alligevel har vi nu fundet, at *ML-(La)* kobler til et gen for sribesyggeresistens. Vi finder det meget ønskeligt at få genet for sribesyggeresistens lokaliseret. Det er imidlertid vanskeligt at bestemme, om genet er til stede eller ej. Derfor er det blevet endnu mere påkrævet at finde ud af, hvor *ML-(La)* ligger på kromosomerne.

Koblingskort hos byg

Et stort antal meldugresistensgener var tidligere lokaliseret til kromosom 5. Derfor startede vi i 1968 en større undersøgelse over genernes relati-

Figur 1

Kromosom nr. 4

f9	48.8 ± 1.5
rb	37.4 ± 6.9
I	35.9 ± .9
v5	35.2 ± 1.3
K	20.7 ± .7
ert-i	18.2 ± 1.0
z	15.3 ± .8
lg4	14.4 ± .9
f10	12.6 ± .9
N182	10.8 ± 1.2
ari-c	9.9 ± 2.1
lb2	7.5 ± 1.2
gl	6.0 ± .9
M1-g	4.8 ± .8
cer-zg	1.6 ± 1.8
br2	1.0 ± .5
gl3	0.0 ± 0.0
min	-6.7 ± 1.6
B1	-13.5 ± 1.0
sid	-14.3 ± 1.3
gs1	-14.5 ± 5.8
m1-o	-47.3 ± 2.3
Hs	-69.6 ± 3.1
sh	-75.7 ± 3.1
yh	-77.9 ± 3.1

Kromosom nr. 5

M1-at	84.9 ± 4.2
Pa4	84.5 ± 3.6
M1-ra	83.2 ± 3.9
Glcl	81.3 ± 3.7
HrdD	80.1 ± 3.6
HrdE	79.9 ± 3.6
HrdC	79.7 ± 3.6
Hor5	77.6 ± 3.6
Hor2	77.3 ± 3.6
M1-a	70.1 ± 3.5
Hor1	64.8 ± 3.6
Yr4	63.9 ± 3.8
Hor4	63.7 ± 3.6
M1-k	62.2 ± 3.5
m1-d	51.8 ± 4.1
Lys4	50.5 ± 8.6
M1-nn	46.1 ± 4.0
fs2	18.1 ± 4.1
cer-zi	16.1 ± 3.0
cer-e	15.8 ± 4.0
ert-b	15.4 ± 2.9
Hor3	8.1 ± 1.5
nec1	0.0 ± 0.0
at	-13.8 ± 2.7
wst5	-35.8 ± 2.3
Pgd2	-37.9 ± 2.6
cud-2	-44.6 ± 2.9
B	-57.9 ± 2.5
f7	-67.8 ± 2.6
trd	-73.0 ± 2.6
ea-k	-75.1 ± 2.7

Kromosom nr. 7

ddt	61.7 ± 2.8
nld	46.6 ± 3.7
cud	41.6 ± 1.8
lys3	41.0 ± 2.4
mt2	30.6 ± 5.4
fs	26.6 ± 1.4
wst2	3.7 ± .7
lax-a	3.6 ± 1.3
ari-e	1.2 ± 1.3
ert-g	.5 ± 1.2
ert-n	.2 ± 1.5
s	0.0 ± 0.0
cer-i	-3.4 ± 1.3
cer-zj	-4.5 ± 1.2
cer-zp	-6.1 ± 1.2
lys	-10.8 ± 1.0
cer-t	-15.5 ± 1.2
va	-25.3 ± 1.1
Kw1	-25.8 ± 14.1
cer-w	-27.3 ± 1.6
cm	-27.5 ± .7
r	-29.9 ± .7
Sh2	-45.0 ± 3.0
cl	-63.9 ± 6.3

ve placering på dette kromosom. På daværende tidspunkt var der rapporteret forskellige og ret usikre koblingskort over kromosom 5. Hvordan man var kommet frem til de forskellige kort var ikke beskrevet; man havde simpelthen prøvet sig frem ved at sammenholde forskellige rekombinationsfrekvenser, sådan som man syntes, de passede bedst muligt sammen. På denne måde kan man godt nå frem til et præcist koblingskort, hvis man blot har rekombinationsfrekvenser fra tilstrækkeligt mange loci, og disse er bestemt meget nøjagtigt, sådan som det er tilfældet hos bananfluen.

Rekombinationsfrekvenser i byg er imidlertid oftest behæftet med relativ stor usikkerhed, da de på grund af omkostningerne er baseret på et relativt lille materiale. Beregning af frekvenserne kan ydermere være vanskelig og er undertiden udført forkert. Dertil kommer, at antallet af kendte loci er få, og at kun et fåtal af de mulige parvise kombinationer er undersøgt.

På grundlag af disse kendsgerninger kan det ikke undre, at vore anstrengelser for at få rekombinationsfrekvenserne til at passe med de bestående koblingskort ikke blev nogen succes. Vi lavede derfor en matematisk-statistisk procedure, hvorved vi ved hjælp af en datamat kunne beregne det maksimalt bedste koblingskort. I proceduren vægtes rekombinationsfrekvenserne med den sikkerhed, hvormed de er bestemt. De frekvenser, som er uforenelige med de øvrige, kasseres automatisk. Det koblingskort, vi beregnede af kromosom 5, var baseret på vore egne rekombinationsfrekvenser plus alle de, som var rapporteret i litteraturen. Kortet over kromosom 5 opdateres årligt og er nu rimelig godt (Figur 1). Baseret på kortet har vi været i stand til at lokalisere flere nye loci, heriblandt de vigtige komplekse loci *Hor1* og *Hor2*, der koder for det meste af bygendospermens lagerproteiner, hordeinerne, som har været genstand for mange undersøgelser på internationalt plan. *Hor1* og *Hor2* ligger ret tæt ved hinanden, og midt imellem dem ligger meldugresistens locus *Ml-a*, som besidder en lang række forskellige resistenser. Denne beliggenhed har været udnyttet til at rekombinere uønskede effekter væk fra *Ml-a* og på denne måde fremstille byglinier, der kun adskilte sig fra hverandre med hensyn til meldugresistens. Metoden er et oplagt middel til at introducere nye meldugresistenser fra primitive eller vilde bygger i vore højtydende sorter.

Koblingskortet for kromosom 7 i Figur 1 er lavet i forbindelse med lokalisering af højlysin

genet *lys3a*, der er induceret i Risø mutant 1508. Et kort over kromosom 4 (Figur 1) er lavet med henblik på lokalisering af generne for højlysin lagerproteinerne beta-amylase, *Bmyl* og protein Z, *Pazl*. Disse gener er endnu ikke placeret på kortet. Et godt koblingskort over kromosom 4 er en absolut nødvendighed for at kunne udføre vort projekt med at lokalisere translokationsbrudpunkternes placering på kromosom 4 i ca. 250 translokationer. Med kendskab til brudpunkternes placering kan vi forudsige, hvilke par af translokationerne der kan bruges til at duplikere generne *Bmyl* og *Pazl*, samt hvilke af de mulige par der er mest velegnede. En duplikation af disse loci kan formodes at øge byggens lysnindhold og dermed dens foderværdi.

På koblingskortet over kromosom 7 (Figur 1) er locus *Kwl* på position -25.8 fremhævet. Dette locus, et såkaldt QTL (kvantitativ karakter locus), kontrollerer en forskel i 1000-kornsvægt. Forudsætningen for at kunne identificere og lokalisere genet var en ny beregningsprocedure, som vi har udviklet på landbrugsafdelingen. Inspirationen til udvikling af proceduren opstod i forbindelse med en beregningsmæssig opgørelse af et markforsøg med et materiale af kromosomfordoblede monoploider og er iøvrigt betinget af vore relativt gode beregningsfaciliteter, uden hvilke ideerne ville have været skrinlagt ved deres fødsel.

Mange af de vigtigste karakterer i byg og andre organismer måles ved deres mængde eller størrelse på en kontinuert skala. Disse kvantitative karakterer er oftest kontrolleret af flere gener. Den nye beregningsprocedure åbner mulighed for, at vi kan identificere og lokalisere disse gener. På vore nuværende koblingskort er der næsten ingen gener af betydning for praktisk dyrkning, når vi ser bort fra sygdomsresistensgener. De koblingskort, vi i dag råder over, er stort set kun målebånd, som er en nødvendighed, men ikke et mål i sig selv.

Sammendrag

Koblingskort viser, hvorledes generne følges ad i nedarvningen og er derfor vigtige for forædlingen. Klassisk genetik og især koblingsundersøgelser bygger på statistiske metoder. På landbrugsafdelingen er der udviklet statistiske metoder til beregning af koblingskort og til identifikation og lokalisering af gener, der betinger kvantitative egenskaber.

Adskillige isoenzymloci af betydning for kortlægning af kromosomerne er lokaliseret, og gener af betydning for proteinkvalitet og meldugresistens er kortlagt. Baseret på koblingsundersøgelser vurdere mulighederne for duplikation af gener for lysinrige lagerproteiner.

Bibliographic Data Sheet Risø-M-2777

Title and authors

**Agricultural Research Department
Annual Report 1988 (in Danish)**

ISBN

87-550-1509-3

ISSN

**0418-6435
0903-7829**

Dept. or group

**Agricultural Research
Department**

Date

January 1989

Groups own reg. number(s)

Project/contract no.

Pages

Tables

Illustrations

References

31**1****8**

Abstract (Max. 2000 characters)

The annual report gives a general review of the research work of the department. The activities of the year are described in 4 short project reports each followed by a list of publications, posters and lectures. Further, the report gives two review articles on selected subjects related to the work: "Pea mutants" and "Linkage maps". Included in the report are also a list of the staff members, guest scientists and students, lectures given at the department, and a list of travel- and other activities.

Descriptors INIS/EDB

Barley; Bibliographics; Cell Cultures; Disease Resistance; DNA Sequencing; Genetic Engineering; Genetic Mapping; Mildew; Molecular Biology; Mutants; Nitrogen Fixation; Peas; Plant Breeding; Progress Report; Research Programs; Risø National Laboratory

Available on request from Risø Library, Risø National Laboratory,
(Risø Bibliotek, Forskningscenter Risø), P.O.Box 49,
DK-4000 Roskilde, Denmark. Telephone 42 37 12 12, ext. 2268/2269
Telex 43 116. Telefax 46 75 56 27.

**Rekvireres fra
Risø Bibliotek
Forskningscenter Risø, postbox 49,
4000 Roskilde
Telefon 42 37 12 12, lokal 2268/2269
Telex 43116, Telefax 46 75 56 27**

**ISBN 87-550-1509-3
ISSN 0418-6435
ISSN 0903-7829**